



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
EGAS MONIZ**

**MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA**

**ESTUDO COMPARATIVO DA MICROFLORA FÚNGICA  
DE DOENTES PORTADORES DE PRÓTESE TOTAL ACRÍLICA  
MUCOSUPOORTADA E IMPLANTOSUPOORTADA**

Trabalho submetido por  
**Bruno Filipe Antunes Neto**  
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

**Outubro de 2014**





# **INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ**

## **MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA**

### **ESTUDO COMPARATIVO DA MICROFLORA FÚNGICA DE DOENTES PORTADORES DE PRÓTESE TOTAL ACRÍLICA MUCOSUPOORTADA E IMPLANTOSUPOORTADA**

Trabalho submetido por  
**Bruno Filipe Antunes Neto**  
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por  
**Prof. Doutor Sérgio Antunes Félix**

e coorientado por  
**Prof. Doutora Maria Madalena Seabra de Oliveira Salema Oom**

**Outubro de 2014**





## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu orientador, Prof. Doutor Sérgio Félix por me ter dado a oportunidade de fazer parte do Departamento de Reabilitação Oral, ao qual tenho muito orgulho de pertencer e por ter depositado em mim confiança para dar continuidade à sua linha de investigação. Agradeço ainda a constante preocupação e apoio dado ao longo deste projeto.

À Prof. Doutora Madalena Oom, minha coorientadora, que desenvolveu em mim o gosto pela investigação. Pelos seus ensinamentos e apoio constante, bem como pelas valiosas críticas que em muito enriqueceram o meu trabalho.

À Mestre Joana Carvalho que me acompanhou nesta jornada.

Ao Prof. Doutor Paulo Maurício, Mestre João Coelho, Mestre Sónia Silvério e Mestre José Reis pelo seu apoio e paciência, bem como, por todo o contributo durante a recolha das amostras.

Às Preparadoras do Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz e da Escola Superior de Saúde Egas Moniz, Susana e Sandra, pela ajuda no trabalho prático.

Ao Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz (ISCSEM) por ter sido um pilar fundamental na minha formação académica e pela cedência do acesso ao Laboratório de Microbiologia Molecular do Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz dirigido pela Prof. Doutora Madalena Oom.

A todos os doentes que participaram neste estudo, pela sua disponibilidade e compreensão.

Aos meus pais, pelo seu amor, dedicação e por todos os sacrifícios que passaram para eu poder chegar até aqui.

Aos amigos Joana, Inês, Mafalda, Raquel, Cristian, Criveli e ao SAL, que partilharam comigo a vida académica e me deram força para nunca desistir.

Finalmente, à minha namorada Rita, pois só ela sabe o quão difíceis foram estes últimos meses.

A todos, o meu bem haja.

## RESUMO

**Introdução:** A prótese total implantosuportada é considerada atualmente, como a reabilitação de eleição para o desdentado total, contudo, o desconhecimento da flora fúngica pode condicionar a adoção de terapêutica adequada perante infecções fúngicas.

**Objetivos:** Identificar a prevalência da microflora fúngica presente no rebordo e no sulco perimplantar das próteses totais acrílicas implantosuportadas; Comparar a microflora de doentes portadores de próteses totais acrílicas mucosuportadas com portadores de próteses totais acrílicas implantosuportadas.

**Materiais e Métodos:** Foram observados 30 doentes portadores de próteses totais implantosuportadas. As recolhas, na cavidade oral, foram realizadas na área das próteses adjacentes às mucosas com uma zaragatoa estéril e nos sulcos perimplantares de maior profundidade com um cone de papel estéril, todas as recolhas foram acompanhadas do consentimento informado dos doentes, processo este aprovado pela comissão de ética do ISCSEM. As leveduras foram isoladas e identificadas em *Brilliance™ Candida*.

**Resultados:** Das 60 amostras analisadas, foram identificadas *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei* e *C. parapsilosis*. Ao comparar as amostras provenientes das próteses implantosuportadas com as amostras das próteses totais mucosuportadas não encontramos qualquer associação quanto ao crescimento de fungos, o grau de colonização ou a espécie identificada.

**Conclusões:** A localização da PTIS (inferior/superior), os fatores de risco, o uso de mais do que um método de higiene oral e os sinais inflamatórios por si só, não estão diretamente relacionados com o crescimento ou o tipo de fungos que se desenvolvem no sulco e no rebordo das mesmas. O tipo de prótese (PTMS/PTIS) não parece influenciar a colonização por leveduras e o grau de colonização.

**Palavras-chave:** Prótese total implantosuportada; Prótese total mucosuportada; *Candida* spp; Microbiologia.

## ABSTRACT

**Introduction:** Nowadays, the total implant retained prosthesis is assumed as the gold standard for the total edentulous, although, the unknown of the fungal flora may difficult the application of a therapeutic solution in case of fungal infection.

**Objectives:** Identify the prevalence of fungal microflora present in the mandibular ridge and periimplantar sulcus from total implant retained prosthesis; Comparison of the microflora from patients rehabilitated with total acrylic denture and total implant retained prosthesis.

**Materials and methods:** We observed 30 patients rehabilitated with total implant retained prosthesis and total acrylic prosthesis. The collections were made in the area adjacent to the prosthesis with a sterile swab and periimplantar sulcus of greater depth with a sterile paper cone, all collections were accompanied with patient informed consent, approved by the ethics commission from ISCSEM. The yeasts were isolated and identified in Brilliance™ *Candida*.

**Results:** From the 60 samples analyzed, we identify *C. albicans*, *C. tropicallis*, *C. glabrata*, *C. krusei* and *C. parapsilosis*. By comparing the samples from the total retained prosthesis with the ones collected from the total acrylic denture, we have found no association as to fungal growth, the degree of colonization or the identified species.

**Conclusion:** The location of the PTIS, risk factors, increase in oral hygiene methods and signs of inflammation by itself, are not directly related to the type or the growth of fungus in the mandibular ridge or the sulcus. The type of prosthesis (PTMS / PTIS) does not seem to influence the colonization by fungus, the degree of colonization and the distribution of the sample to the species identified.

**Keywords:** Total implant-retained prosthesis; Total acrylic denture; *Candida* spp; Microbiology.

## ÍNDICE GERAL

<b>I</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	14
A	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
1-	REABILITAÇÃO ORAL DO DOENTE DESDENTADO TOTAL	15
1.1-	Edentulismo	15
1.2-	Prótese total	16
1.2.1-	<i>Rebordo residual</i>	17
1.2.2-	<i>Materiais para confecção de próteses totais</i>	19
1.3-	Implante dentário	21
1.3.1-	<i>Osteointegração</i>	22
1.3.2-	<i>Mucosa perimplantar</i>	22
1.3.3-	<i>Caraterísticas de superfície</i>	24
1.3.4-	<i>Pilares protéticos</i>	25
1.4-	Próteses implantosuportadas	26
1.4.1-	<i>Tipo de prótese sobre implantes</i>	26
1.4.2-	<i>Vantagens e desvantagens das próteses sobre implantes</i>	28
2-	MICROFLORA ORAL	28
2.1-	Género <i>Candida</i>	29
2.1.1-	<i>Colonização versus infecção</i>	30
2.1.2-	<i>Fatores de predisposição do hospedeiro</i>	32
2.2-	Placa protética	33
3-	PATOLOGIA ORAL	34
3.1-	Mucosite protética	34
3.2-	Candidíase oral	35
3.3-	Perimplantite	37
4-	DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO	39
5-	TERAPÊUTICA	39

6-	HIGIENIZAÇÃO	40
6.1-	Controlo em casa	41
6.2-	Controlo em consultório	42
B	OBJETIVOS E HIPÓTESES DE ESTUDO	44
1	OBJECTIVOS	44
2	HIPÓTESES EM ESTUDO	44
<b>II</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b>	45
1-	QUESTÕES ÉTICAS	45
2-	AMOSTRA ESTUDADA	45
3-	RECOLHA DAS AMOSTRAS	46
4-	ANÁLISE MICROBIANA	47
4.1-	Isolamento primário	47
4.2-	Identificação das espécies de <i>Candida</i> pelo fenótipo em meio brilliance™ <i>Candida</i>	48
4.3-	Identificação genotípica das espécies de <i>Candida</i> por sequenciação do domínio D1/D2 do ADN ribossomal 26S	49
4.3.1-	<i>Extração do ADN genómico</i>	49
4.3.2-	<i>Reação de amplificação por reação em cadeia da polimerase</i>	49
4.3.3-	<i>Análise eletroforética</i>	50
4.3.4-	<i>Purificação do ADN amplificado</i>	51
4.3.5-	<i>Quantificação e sequenciação do ADN</i>	51
4.3.6-	<i>Identificação genotípica das espécies de Candida</i>	52
5-	ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS OBTIDOS	52
<b>III</b>	<b>RESULTADOS</b>	53
A	IDENTIFICAÇÃO E CARATERIZAÇÃO DO GRUPO DAS PTIS	53
1-	Identificação do grupo das PTIS	53
2-	Caraterização da amostra quanto à existência de fatores de risco	53
3-	Caraterização da amostra quanto ao tempo de utilização da prótese	54
4-	Caraterização da amostra por arcada reabilitada	55

5-	Caraterização da amostra quanto ao número de implantes	55
6-	Caraterização da amostra quanto à presença de sinais inflamatórios associado aos implantes	56
7-	Caraterização da amostra quanto à higiene oral	56
8-	Identificação e caraterização da microflora das PTIS	57
8.1-	<i>Caraterização da amostra quanto à presença de fungos</i>	57
8.2-	<i>Particularidades das amostras provenientes do rebordo</i>	59
8.3-	<i>Particularidades das amostras provenientes do sulco</i>	59
8.4-	<i>Caraterização da amostra quanto à colonização por arcada reabilitada</i>	59
8.5-	<i>Caraterização da amostra quanto às espécies consoante a sua localização</i>	60
8.6-	<i>Caraterização das espécies identificadas</i>	60
8.7-	<i>Caraterização da amostra quanto ao número de unidades formadoras de colónia (UFC) no sulco</i>	61
8.8-	<i>Caraterização da colonização face ao número de implantes colocados</i>	61
B	COMPARAÇÃO DO GRUPO DAS PTIS COM O GRUPO DAS PTMS	62
1-	Comparação da microflora das PTIS com a microflora das PTMS	62
2-	Comparação do crescimento total de fungos entre as próteses	63
3-	Comparação da distribuição da amostra quanto às espécies identificadas entre as próteses	64
4-	Comparação do grau de colonização entre as amostras provenientes do rebordo das próteses	65
IV	<b>DISCUSSÃO</b>	66
V	<b>CONCLUSÕES</b>	71
VI	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	52
VII	<b>ANEXOS</b>	

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	Prótese total	16
<b>Figura 2</b>	Constituição do rebordo residual	18
<b>Figura 3</b>	Implante dentário	20
<b>Figura 4</b>	Sistemas de conexão	22
<b>Figura 5</b>	Comparação da profundidade de sulco entre o dente e o implante	23
<b>Figura 6</b>	Prótese total implantosuportada com 6 implantes	26
<b>Figura 7</b>	Abordagem <i>all-on-4</i> <sup>TM</sup>	27
<b>Figura 8</b>	<i>C. albicans</i> – imagens MEV	29
<b>Figura 9</b>	Mucosite protética no palato de um desdentado total	34
<b>Figura 10</b>	Diferentes apresentações clínicas de candidíase oral	37
<b>Figura 11</b>	Reabsorção óssea ao redor dos implantes caraterístico da perimplantite	38
<b>Figura 12</b>	Métodos de higiene oral em casa	42
<b>Figura 13</b>	Manutenção de implantes	43
<b>Figura 14</b>	Recolha de amostras do sulco e do rebordo	46
<b>Figura 15</b>	Processamento de amostras pelo método riscado e método de espalhamento	47
<b>Figura 16</b>	Identificação fenotípica em meio cromogénico <i>Brilliance</i> <sup>TM</sup> <i>Candida</i>	48
<b>Figura 17</b>	Perfil de bandas obtido por eletroforese num gel de agarose	51
<b>Figura 18</b>	Kit de purificação GFX da Illustra® Obtenção dos dados no programa Blast® com as diferentes	51
<b>Figura 19</b>	Associações encontradas e respetivo grau de aproximação da sequência de ADN	52

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1</b>	Representação gráfica da classificação das próteses totais	17
<b>Gráfico 2</b>	Classificação do tipo de rebordo	18
<b>Gráfico 3</b>	Morfologia do rebordo residual no sentido mesiodistal	19
<b>Gráfico 4</b>	Morfologia do rebordo residual no sentido vestibulolingual	19
<b>Gráfico 5</b>	Tipos de prótese sobre implantes	26
<b>Gráfico 6</b>	Fatores de virulência da <i>C. albicans</i>	31
<b>Gráfico 7</b>	Esquematização do processo de recolha das amostras	47
<b>Gráfico 8</b>	Esquema da sequência de genes na região D1/D2 e primers usados para a sua sequenciação	49
<b>Gráfico 9</b>	Distribuição da amostra quanto ao género nas PTIS	53
<b>Gráfico 10</b>	Distribuição da amostra por faixa etária nas PTIS	53
<b>Gráfico 11</b>	Distribuição do número de indivíduos com fatores de risco nas PTIS	54
<b>Gráfico 12</b>	Distribuição da amostra quanto ao tempo de utilização da prótese nas PTIS	54
<b>Gráfico 13</b>	Distribuição da amostra por arcada reabilitada nas PTIS	55
<b>Gráfico 14</b>	Distribuição da amostra por número de implantes em carga nas PTIS	55
<b>Gráfico 15</b>	Distribuição da amostra quanto à presença de sinais inflamatórios nos implantes das PTIS	56
<b>Gráfico 16</b>	Distribuição da frequência de escovagem diária nas PTIS	57
<b>Gráfico 17</b>	Distribuição da quantidade de métodos de higiene oral utilizados nas PTIS	57
<b>Gráfico 18</b>	Distribuição da amostra quanto ao crescimento de fungos nas PTIS	58
<b>Gráfico 19</b>	Distribuição da amostra quanto ao crescimento de fungos consoante a localização da recolha nas PTIS	58
<b>Gráfico 20</b>	Distribuição da amostra quanto ao grau de colonização entre o rebordo e o sulco nas PTIS	58
<b>Gráfico 21</b>	Distribuição da colonização por <i>Candida</i> por arcada reabilitada	59
<b>Gráfico 22</b>	Distribuição da amostra quanto à espécie colonizadora no rebordo e no sulco	60
<b>Gráfico 23</b>	Distribuição da amostra quanto às UFCs no sulco	61
<b>Gráfico 24</b>	Distribuição da amostra quanto ao crescimento de fungos face ao número de implantes	61
<b>Gráfico 25</b>	Distribuição da amostra por género no grupo de estudo	62
<b>Gráfico 26</b>	Distribuição da amostra quanto ao género nas PTIS e PTMS	63
<b>Gráfico 27</b>	Distribuição da amostra por faixa etária nas PTIS e PTMS	63
<b>Gráfico 28</b>	Comparação do crescimento de fungos entre a PTIS e a PTMS	64
<b>Gráfico 29</b>	Comparação de espécies de <i>Candida</i> entre a PTIS e a PTMS	64
<b>Gráfico 30</b>	Comparação do grau de colonização entre a PTIS e a PTMS	65



## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	Tipos de tratamento da superfície do implante	24
<b>Tabela 2</b>	Mistura de PCR	50
<b>Tabela 3</b>	Etapas da reação de amplificação pela técnica de PCR	50
<b>Tabela 4</b>	Distribuição dos métodos de escovagem quanto ao número de doentes que os utilizam	56
<b>Tabela 5</b>	Distribuição da amostra quanto às espécies identificadas nas PTIS	60

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

Ácido desoxirribonucleico –ADN

Ácido Etilenodiaminetotetraacético - EDTA

Brilliance Candida agar – BCA

Crescimento – Cresc.

Feminino – Fem.

Granada Ítrio-Alúminio enriquecido com Érbio - Er:YAG

Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz – ISCSEM

Masculino – masc.

National Center for Biotechnology Information - NCBI

Polimetil metacrilato - PMMA

Protéases Aspárticas segregadas – PAS

Prótese Total – PT

Prótese Total Implantosuportada – PTIS

Prótese Total Mucosuportada – PTMS

Raio-x - RX

Reação em Cadeia da Polimerase – PCR

Rebordo Residual – RR

Sabouraud Dextrose Agar – SDA

Tris EDTA – TE

Tris-Acetate-EDTA - TAE

Unidade Formadora de Colônia - UFC

Vírus da Imunodeficiência Humana – VIH

## **I - INTRODUÇÃO**

Nas últimas décadas, o edentulismo tem vindo a diminuir na Europa, em parte pela melhoria nos cuidados de saúde oral prestados e pela evolução tecnológica dos materiais e técnicas, os quais visam cada vez mais intervenções atempadas e precoces nas patologias da cavidade oral, e daí a manutenção dos dentes por mais tempo em função (Martori, Ayuso-Montero, Martinez-Gomis, Viñas & Peraire, 2014). No entanto, assistimos a um aumento da esperança média de vida com o envelhecimento da população, o que consequentemente traz consigo maiores dificuldades em termos de mobilidade e alterações neurológicas as quais podem de certa forma justificar, nestas faixas etárias, uma maior dificuldade em manter hábitos de higiene oral eficazes e visitas regulares ao médico dentista. Estes fatores como sabemos desencadeiam condições orais relacionadas com perda de peças dentárias, na qual a intervenção de equipas de reabilitação oral é fundamental (Li *et al.* 2012). De entre as opções disponíveis para se proceder à reabilitação de arcadas edêntulas, a mais frequente é a prótese total mucosuportada (PTMS) porém, e graças aos avanços tecnológicos e científicos, tem sido possível em determinados casos recorrer à prótese total implantosuportada (PTIS). Esta, graças a uma melhor adaptação e aceitação por parte do doente, bem como uma melhor percepção dos tecidos orais e impacto psicológico tem vindo a ser cada vez mais uma escolha por parte dos nossos doentes (Hyland, Ellis, Thomason, El-Feky & Moynihan, 2009).

O uso de prótese constitui um reservatório microbiológico, tanto pelas características dos materiais com que são confeccionados como pelas superfícies de adesão de placa, desencadeando uma resposta por parte do organismo do indivíduo. Consequentemente, inflamação e infeção dos tecidos orais pode resultar no aparecimento de mucosite protética e no caso específico das reabilitações com recurso a implantes, na perimplantite (Real-Osuna, Almendros-Marqués & Gay-Escoda, 2012).

Sendo o género *Candida* o fungo mais prevalente na cavidade oral, (William, 2011; Salerno *et al.*, 2011; Bürgers *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2012, McManus & Coleman, 2013) diversos estudos têm apresentado cada vez mais casos de infeções associadas a este microrganismo. Embora este seja associado a doentes imunocomprometidos, como é exemplo o vírus da imunodeficiência humana (VIH), o mesmo surge cada vez mais em outros grupos de doenças, tal como a *diabetes mellitus*, doença em expansão nas sociedades ditas desenvolvidas, e ainda em doentes submetidos a terapias

imunossupressoras (Manfredi, Polonelli, Guirre-Urizar, Carrozzo & McCullough, 2013). Os tratamentos com PTIS para além de complexos são dispendiosos, tornando-se essencial estudar a forma como este fungo coloniza as PTIS, em especial as espécies de *Candida* não-*albicans*, pela sua maior resistência à terapia antifúngica o que pode proporcionar, em ultima análise taxas mais elevadas de mortalidade por candidemia (Majewski, *et al.*, 2008). É sem dúvida importante compararmos, e tal é possível pois são bastantes os estudos no que respeita à sua higiene, em termos microbiológicos com as PTMS (Souza, Freitas, Lovato, Abu-Naba, Fedorowicz & Gurgan, 2009), por forma a compreender se a manutenção e higiene deste tipo de reabilitação pode ser extrapolado, bem como, o tipo de antifúngicos ou outros meios químicos a serem usados em situação patológica.

O presente estudo faz parte integrante de uma linha de investigação a decorrer no ISCSEM desenvolvida pelo grupo de trabalho de Reabilitação Oral em parceria com o grupo de trabalho de Microbiologia.

Como tal, com este trabalho pretende-se verificar o tipo de microflora fúngica existente no rebordo subjacente das PTIS, bem como, no sulco perimplantar das mesmas e posteriormente comparar os resultados obtidos com dados provenientes de PTMS.

## **A - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **1 - REABILITAÇÃO ORAL DO DOENTE DESDENTADO TOTAL**

#### **1.1 - Edentulismo**

O edentulismo define-se como o resultado da extração total de peças dentárias, na maioria dos casos devido a patologias orais comuns, tais como a cárie ou a doença periodontal (Carlsson & Omar 2010). Nas últimas décadas, a incidência de perda dentária no contexto europeu diminuiu e consequentemente a prevalência do edentulismo também, o que reflete um aumento da saúde oral da população adulta nestes países (Carlsson & Omar, 2010; Martori, 2014). A reabsorção óssea tem sido extensivamente estudada, caracterizando-se como um processo crónico, progressivo e irreversível. Esta é influenciada por diversos fatores tais como: a idade; o género; a anatomia facial; o metabolismo; a má higiene oral; as parafunções; as doenças sistémicas; a osteoporose; o tabagismo; a medicação e o tempo de edentulismo (Laurito,

Lamazza, Spink & Biase, 2012). A ausência de peças dentárias provoca uma diminuição da dimensão vertical de oclusão, readaptação dos tecidos da face e diminuição da força e capacidade de mastigação, refletindo-se ainda numa baixa autoestima por parte do doente pelas alterações fonéticas e estéticas que daí resultam (Hyland *et al.*, 2009).

A prótese dentária é definida como a ciência e a arte de desenvolver substitutos convenientes para a porção coronária dos dentes, ou para a substituição de um ou mais dentes perdidos, assim como estruturas associadas, de maneira a restaurar as funções perdidas, aparência estética, o conforto e a saúde do doente (Turano & Turano, 2012). Apesar de existirem opções que oferecem maior estabilidade e comodidade, como é o caso da prótese sobre implantes, para a reabilitação de indivíduos edêntulos, a prótese total (PT) mucosuportada continua a ser a opção terapêutica mais comum para a maioria da população.

## 1.2 - Prótese Total

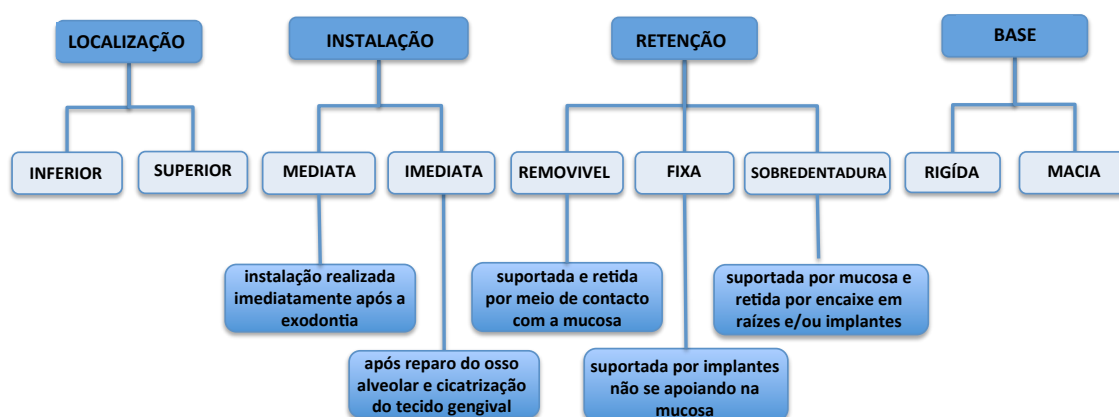
Etimologicamente, prótese significa a colocação de uma coisa sobre outra e em lugar da outra. A palavra é derivada do grego: “pro” (em lugar de) e “thesis” (colocar) (Turano & Turano, 2012).

Podemos definir a PT como, uma prótese dentária removível que permite a reposição das superfícies mastigatórias e das estruturas associadas de uma arcada dentária, superior, inferior ou ambas, sendo constituída por dentes artificiais unidos à base, a qual se encontra em íntimo contacto com os tecidos orais subjacentes (Figura 1). No que respeita à sua classificação, os autores apresentam diversas formas de o fazer como se encontra patente no Gráfico 1.



**Figura 1** – Prótese total (adaptado de Volpato *et al.*, 2012)

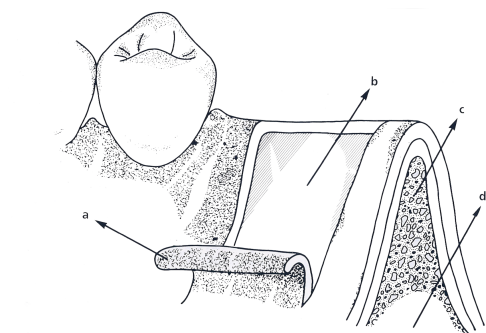
Diversos estudos demonstram uma pobre associação entre a satisfação do doente e os indicadores prognósticos do sucesso da prótese, nomeadamente a idade, o estado psicológico, a gestão de expectativas, uso prévio de prótese, método de construção e rebordo residual (RR) (Critchlow & Ellis, 2009). De entre os objetivos da prótese e mais concretamente da PT, destacam-se, a reposição da dentição completa e estruturas associadas do maxilar, o restabelecimento da dimensão vertical, da função fonética, deglutição, estética e harmonia facial (Volpato, Galbelotto, Zani & Vancellos, 2012). O uso correto das próteses bem como o cuidado a ter com estas, são de grande importância para o doente, não só por motivos estéticos e funcionais, mas também pela manutenção dos tecidos de suporte e pelo correto acondicionamento das próprias próteses. Desta forma, o médico dentista deve orientar e motivar o doente para a manutenção das suas próteses, através de consultas de controlo da reabilitação oral com visitas anuais, com o objetivo de promover a melhoria de fatores tais como a função, a adaptação, avaliando e despistando a presença de lesões orais e perda de osso, bem como o estado geral da saúde oral (Felton *et al.*, 2011).



**Gráfico 1** – Representação gráfica da classificação das próteses totais (Adaptado de Volpato *et. al.*, 2012)

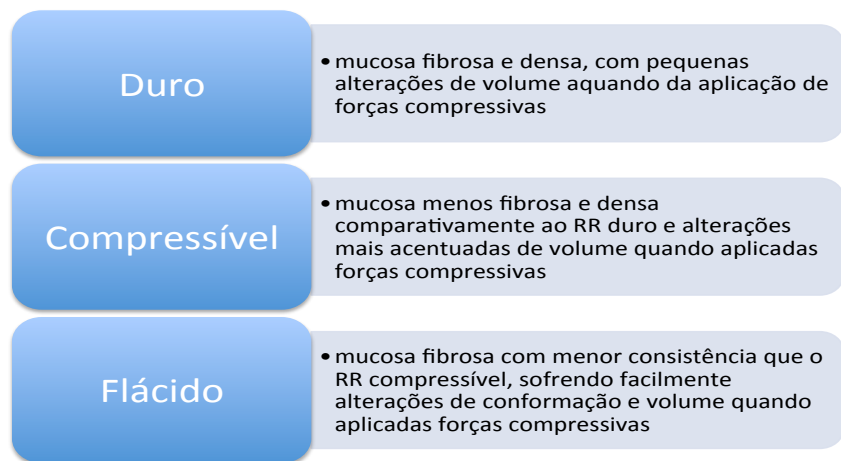
### 1.2.1 - Rebordo Residual

A base protética onde se adapta a PT é denominada de rebordo residual, sendo esta constituída por osso alveolar, recoberto por membrana, mucosa e submucosa (Figura 2). Na submucosa encontram-se vasos sanguíneos, que irrigam a superfície da fibromucosa gengival e terminações nervosas, responsáveis pela informação sensorial do interior da cavidade oral (Di Fiore, 2010).



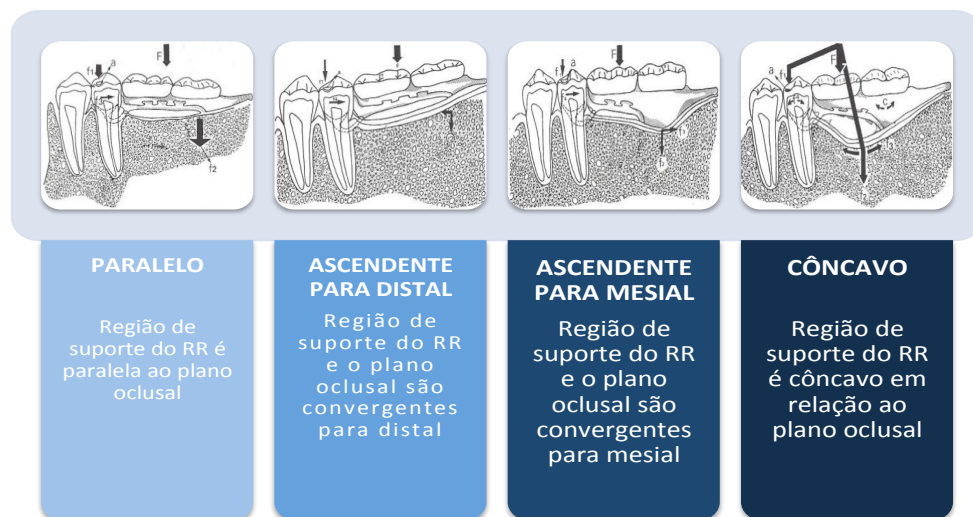
**Figura 2** - Constituição do rebordo residual  
(Adaptado de Di Fiore, 2010)

O suporte ósseo para a PT superior é dado pelos ossos maxilares, direito e esquerdo e pelo osso palatino. Quando existem rebordos ósseos aplanados é difícil conseguir uma retenção e estabilidade da PT. Por isso, a preservação do tecido ósseo é um fator de extrema importância para alcançar o sucesso terapêutico (Turano & Turano, 2012). O RR ideal para suportar uma base protética deve constar de uma cortical óssea que recubra um reticulado ósseo relativamente denso, de uma crista plana e ampla e de vertentes altas e verticais, sendo cobertas por tecido conjuntivo firme, denso e fibroso. (Di Fiore, 2010). O RR pode ser classificado quanto à resiliência do seu tecido fibromucoso (Gráfico 2), ou quanto à sua morfologia, no sentido mesiodistal (Gráfico 3) e no sentido vestibulolingual (Gráfico 4).



**Gráfico 2** - Classificação do tipo de rebordo (Adaptado de Di Fiore, 2010)





**Gráfico 3** - Morfologia do rebordo residual no sentido mesiodistal (Adaptado de Di Fiore, 2010)



**Gráfico 4** - Morfologia do rebordo residual no sentido vestibulolingual (Adaptado de Di Fiore, 2010)

### 1.2.2 – Materiais para confecção de próteses totais

As próteses dentárias, à semelhança dos dentes naturais acumulam placa, tártaro e manchas (Coulthwaite & Verran, 2007).

De entre os materiais usados para a confecção das bases protéticas, destacam-se os polímeros, tais como o polietileno tereftalato, o polimetil metacrilato e a Poliamida 12 e as cerâmicas, como a zircônia, o feldspato e o dissilicato de lítio, sendo estes escolhidos tendo em conta a sua disponibilidade, estabilidade dimensional, cor, manipulação e compatibilidade com os tecidos orais (Turano & Turano, 2012; Li, *et al.*, 2012; Anusavice, Shen & Rawls, 2013; Wieckiewicz, Opitz, Richter & Boening, 2014; Fueki *et al.*, 2014). Idealmente o material constituinte da base da prótese dentária deverá ter as

seguintes propriedades: baixa toxicidade, biocompatibilidade, estabilidade de cor, estética, fácil reparação, estabilidade dimensional e fácil higienização. Deve ainda ter propriedades mecânicas, físicas e químicas adequadas, radiopacidade, leveza e hipoalérgico (Turano & Turano, 2012).

Atualmente o material mais utilizado em bases protéticas é a resina acrílica polimetil metacrilato (PMMA) (Coulthwaite & Verran, 2007; Lee, 2010). Este material é referenciado como tendo excelentes propriedades físicas e estéticas com relativa baixa toxicidade, comparativamente a outros tipos de polímeros (Lee, 2010). Os sistemas de PMMA apresentam-se sob a forma de um pó e de líquido que quando misturados desencadeiam uma reação de polimerização. O pó é constituído por esferas pré-polimerizadas de PMMA e um iniciador. No que respeita ao líquido, o mesmo é composto em grande parte por PMMA não polimerizado e um inibidor, por forma a prevenir a polimerização do líquido durante o seu armazenamento (Anusavice *et al.*, 2013).

Os PMMAs sofrem contração durante a polimerização, formando poros de diferentes tamanhos e formas. Em situações de elevada porosidade desencadeia-se o enfraquecimento da prótese o que leva à adesão e desenvolvimento de microrganismos, tais como a *C. albicans* (Li *et al.* 2012). No entanto, tem-se assistido ao aumento da colonização de espécies não *albicans* como é exemplo a *C. glabrata* (Cavaleiro, 2012; Fernandes, Cenci, Silva, Filho, Straioto & Cury, 2014).

Este tipo de polímeros sofre biodegradação em contacto com os fluidos orais, tendo como consequência a libertação de compostos potencialmente tóxicos da rede polimérica, alterando as propriedades físicas e mecânicas dos materiais. Tais compostos, são responsáveis por provocar alterações biológicas em termos alérgicos, assim como hormonais. Vários estudos a nível celular demonstram que os resíduos de monómeros têm potencial indutor de citotoxicidade, genotoxicidade, alteração da expressão do fator de crescimento, bem como stress oxidativo permanente celular o que pode levar a sensibilidade e dor na mucosa oral, bem como ulceração, edema e em último caso estomatite protética (Bettencourt *et al.*, 2010).

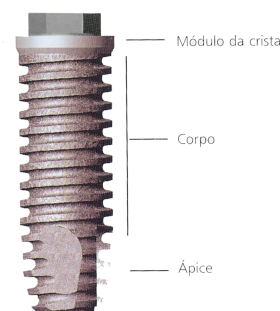
A quantidade e qualidade de colonização fúngica é fortemente influenciada pelas propriedades dos materiais. O aumento da energia de superfície tem um papel preponderante na adesão inicial, estando as irregularidades e rugosidades associadas a este aumento, funcionando como um reservatório e um meio de proteção para os microrganismos que a colonizam. Por outro lado a hidrofobicidade dos materiais tem

um papel inverso ao promover uma menor adesão dos mesmos (Li *et al.*, 2012; Fernandes *et al.*, 2014). O polimento das bases protéticas permite a redução da energia de superfície, bem como a sua hidrofobicidade, possibilitando deste modo, a diminuição da colonização fúngica (Satpathy & Gujjari, 2013).

### 1.3 – Implante dentário

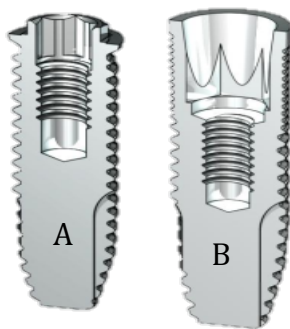
O implante dentário é um material sintético colocado no rebordo alveolar, a fim de substituir uma ou mais peças dentárias perdidas (Misch, 2007).

Existem quatro tipos principais de desenhos de implantes dentários a referir, o subperiosteal, em forma de lâmina, em *ramus frame* e o endósseo. O implante dentário endósseo é um material aloplástico, com uma forma tipicamente em rosca, feito geralmente em titânio ou ligas de titânio, inserido na mandíbula ou na maxila com o objectivo de substituir a raiz de um dente perdido (Gaviria, Salcido, Guda & Ong, 2014).



**Figura 3** - Implante dentário (Misch, 2007)

O implante endósseo pode ter diferentes tipos de desenhos, entre os quais se destacam: o cilíndrico; o rosqueado, sendo o mais popular pelas suas propriedades mecânicas (Gaviria *et al.*, 2014); o perfurado e o sólido com orifícios. No que respeita à sua superfície distinguem-se entre lisos, maquinados ou texturados (Misch, 2007). Quanto à sua constituição, o implante dentário é caracterizado por três elementos: o corpo, o módulo da crista e o ápice (Figura 3). O corpo do implante apresenta-se de diferentes formas e tamanhos, sendo que o tipo de preparação da sua superfície pode aumentar a área de superfície em 500% (Misch, 2007). A área de superfície varia com o número de espiras, o seu desenho e o tratamento aplicado. O módulo da crista ou conector tem como função permitir a aplicação de torque, por forma a enroscar o implante no osso e conectar-se ao pilar protético. Tipicamente o conector pode ser externo ou interno sendo o mais conhecido o hexagonal (Figura 4.) (Gaviria *et al.*, 2014). Geralmente os implantes possuem um colar cervical polido que previne a adesão de microrganismos, já que a região do conector se encontra em contacto com os tecidos moles e não intraósseo (Misch, 2007). No entanto, a presença de poros e irregularidades, inerentes à superfície dos implantes atuais, representam locais de proliferação microbiológica quando expostos ao meio oral (Soares, 2009).



**Figura 4** – Sistemas de conexão. A) hexagonal externo; B) Cone morse (interno)  
<http://www.intechopen.com/source/html/18426/media/image7.png>

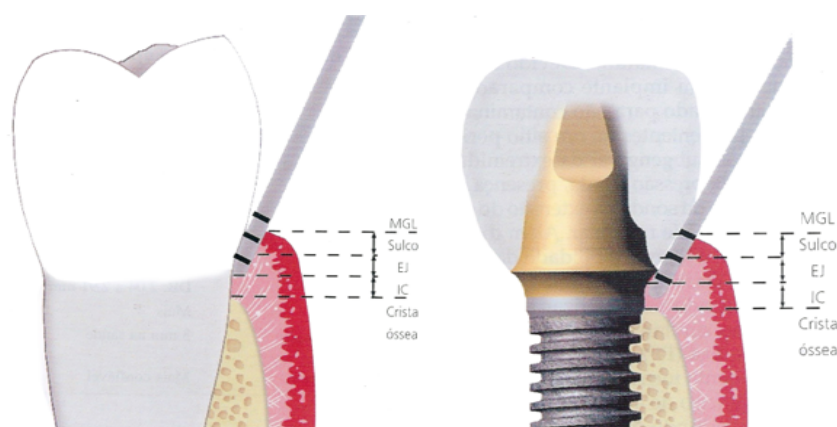
### *1.3.1- Osteointegração*

Osteointegração é definida como uma conexão funcional e estrutural entre o osso, a matriz e o implante. Esta ligação é fundamental de modo a promover a estabilidade do implante e é considerada um pré requisito para a colocação e sucesso a longo prazo dos implantes endósseos (Parithimarkalaignan & Padmanabhan, 2013). Este fenómeno foi demonstrado pela primeira vez por Branemark e colaboradores, ao ancorarem peças de titânio em animais, verificaram que estas se fixavam ao osso. Deste modo, conseguiram desenvolver uma solução fixa para as mandíbulas edêntulas, constatando que este tipo de terapêutica protética oferecia mais estabilidade e conforto face às próteses removíveis (Cooper, 2008). Por outro lado e segundo a Lei de Wolff proposta em 1892, refere que a aplicação de forças sobre o osso cria uma carga elétrica, provocando a estimulação da atividade osteoblástica. O restabelecimento da função após a reabilitação implantosuportada, permite um melhor funcionamento dos músculos mastigatórios, ativando assim o processo de remodelação óssea (Alcântara, 2008). Como tal, a biocompatibilidade, o desenho do implante, a morfologia de superfície e as cargas após a colocação em osso são fatores relevantes para a obtenção de osteointegração. A taxa de sobrevivência do implante dentário está relacionada com a qualidade e a quantidade de osso disponível na arcada dentária (Volpato *et al.*, 2012; Goiato *et al.*, 2014).

### *1.3.2 - Mucosa perimplantar*

Após a colocação do implante no osso, forma-se um tecido transmucoso justaposto ao implante. Este tecido tem uma função de “selamento” que previne que produtos da cavidade oral alcancem o osso, levando à contaminação do mesmo

(Charalampakis, Leonhardt, Rabe & Dahlén, 2013). Este processo biológico, denominado de “selo biológico” ocorre por adaptação e regeneração dos tecidos às superfícies de um material implantado. A formação deste é essencial para o sucesso do implante e respetiva prótese (Misch, 2007). A face externa da mucosa perimplantar é coberta por epitélio oral queratinizado, composto por uma barreira epitelial na sua margem, semelhante ao epitélio juncional presente nos dentes, virado para o sistema de conexão do implante. A barreira epitelial tem cerca de 2mm de comprimento, estando ligado à superfície do implante por hemi-desmosomas. As fibras principais estão organizadas paralelamente ao corpo do implante (Lindhe, Lang & Karring, 2008; Charalampakis *et al.*, 2013). Ao contrário do que acontece nas peças dentárias, a superfície do implante carece de fibras de Sharpey inseridas perpendicularmente ao implante. Isto leva a que o sulco perimplantar seja mais profundo que o sulco gengival (Figura 5), levando em última análise a uma maior penetração dos microrganismos. A ausência de ligamento periodontal, confere diversas desvantagens ao implante, comparativamente à peça dentária, nomeadamente, redução da barreira física contra invasões microbiológicas e fraco aporte sanguíneo (Belibasakis, 2014).



**Figura 5** – Comparação da profundidade de sulco entre o dente e o implante. (adaptado de Misch, 2007)

De um modo geral, as leveduras do género *Candida* têm um potencial de adesão aos tecidos orais e aparelhos implantáveis como os *pacemarkers*, os shunts, as próteses da anca e os implantes dentários, semelhante às bactérias (Bürgers, 2010).

### *1.3.3 – Características da superfície*

A ancoragem do implante é determinada pelo grau de contacto osso/implante, sendo este um fator fundamental para que ocorra osteointegração. Assim sendo, as propriedades físicas e químicas da superfície do implante vão ditar a qualidade e a velocidade em que ocorre o processo de osteointegração (Gaviria *et al.*, 2014).

O grau de contacto é influenciado pelo desenho das espiras, sendo que estas aumentam a estabilidade inicial e distribuem o stress ao longo do implante minimizando as forças produzidas na interface osso/implante. Podemos caracterizar o perfil das espiras quanto à sua profundidade, número, angulação e formato do desenho (Gaviria *et al.*, 2014).

As células osteoblásticas têm potencial para aderir mais rapidamente às superfícies rugosas em relação às polidas (Gaviria *et al.*, 2014), para tal, existem diferentes métodos que permitem o aumento da rugosidade de superfície como enunciado na seguinte tabela (Tabela 1).

Processo	Descrição
<b>Spay de plasma</b>	Partículas metálicas aquecidas a altas temperaturas projetadas sobre a superfície criando um revestimento com espessuras entre os 10-40 $\mu\text{m}$ .
<b>Jateamento</b>	Jateamento de partículas metálicas a alta pressão sobre a superfície criando rugosidades na ordem dos 1,5 $\mu\text{m}$ .
<b>Erosão química</b>	Erosão da superfície por ácidos fortes criando micro poros de 0,5 a 2 $\mu\text{m}$ .
<b>Anodização</b>	Processo eletroquímico por meio de uma corrente elétrica num banho eletrolítico que cria uma camada de oxidação e micro poros de tamanho variado.
<b>Revestimento</b>	Adesão de matérias ou moléculas como o fosfato de cálcio ou os fluoretos, produzindo superfícies bioativas que desencadeiam o contacto osso/implante.

**Tabela 1** - Tipos de tratamento da superfície do implante (Adaptado de Gaviria *et al.*, 2014)

#### 1.3.4 – Pilares protéticos

O pilar protético define-se como a porção do implante que serve de suporte ou retenção à prótese ou superestrutura do implante, esta superestrutura é utilizada quando queremos fixar uma prótese fixa ou uma sobredentadura (Misch, 2007).

Os pilares protéticos têm sistemas de encaixe análogos aos implantes sendo os mais conhecidos o hexagonal externo, o hexagonal interno e o cone morse (Reis, Pinelli, Neto, Monnazzi & Segalla, 2011).

Podemos distinguir os pilares em três categorias, pilares para retenção por parafuso, pilares para cimentação e pilares para conectores. Posteriormente, podemos escolher entre pilares rectos ou angulados. Em termos dos materiais utilizados para a sua confeção distinguem-se em pilares metálicos (titânio ou ouro) e cerâmicos (alumina ou zircónia), sendo que a sua seleção recai sobre o tipo de estética pretendida e tipo de trabalho protético exigido. A construção do pilar difere quando precisamos de uma solução protética com múltiplos implantes, sendo as suas dimensões e angulações distintas dos pilares para implantes unitários (Misch, 2007).

O pilar metálico é considerado o *gold standard* devido à sua alta taxa de sobrevivência e às excelentes propriedades físicas (Zembic, Kim, Zwahlen, Kelly, 2014). Por outro lado, o pilar em zircónia pelas suas propriedades estéticas surge no mercado como uma alternativa face aos pilares metálicos (Gracis, Michalakakis, Vigolo, Steyern, Zwahlen & Sailer, 2012) apresentando bons resultados tanto em ensaios *in vitro*, como clínicos, com uma taxa de sobrevivência a 5 anos de 95%, à semelhança do que acontece com os pilares metálicos (Zembic *et al.*, 2014).

A ausência de fibras de sharpey entre o pilar/implante e os tecidos periodontais e consequentemente o aumento do sulco perimplantar funciona como uma porta de entrada para microrganismos e fluidos para a interface pilar/implante devido às cargas oclusais e à falta de precisão dos encaixes (Nascimento, Pita, Pedrazzi, Albuquerque Junior & Ribeiro, 2013). A somar a esta situação, alguns autores descrevem a presença de fungos do género *Candida* e a adesão de biofilme ao pilar protético (Gracis *et al.*, 2012; Nascimento *et al.*, 2013). Estudos revistos por Zembic *et al.* (2014), revelaram uma contagem menor de células inflamatórias nos pilares de zircónia quando comparados com os pilares em titânio e ouro, bem como uma menor adesão microbiana.

#### 1.4 - Próteses implantosuportadas

A colocação de implantes dentários osteointegrados tornou-se numa alternativa com elevada taxa de sucesso, face às próteses fixas ou removíveis para reposição de dentes ausentes (Koyanagi, Sakamoto, Takeuchi, Ohkuma & Izumi, 2010; Matsuda, Kurushima, Enoki, Ikebe & Maeda, 2014). Existe uma panóplia de próteses associadas aos implantes dentários, sendo que algumas delas são criadas

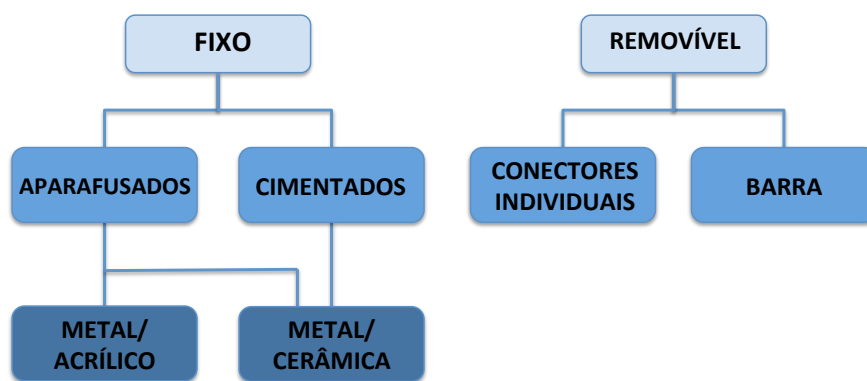


**Figura 6** – Prótese total implantosuportada com 6 implantes. (Volpato *et al.*, 2012)

para condições clínicas específicas de arcadas desdentadas reabilitadas com implantes mais concretamente na ausência de suporte osteomucoso, a prótese total implantosuportada representa um tratamento de referência (Figura 6) (Preciado, Del Río, Lynch & Castillo-Oyagüe, 2013).

##### 1.4.1- Tipos de próteses sobre implantes

Podemos distinguir entre dois tipos de próteses sobre implantes de arco total: as implantosuportadas como sistemas fixos e as implantoretidas como sistemas removíveis (Gráfico 5).



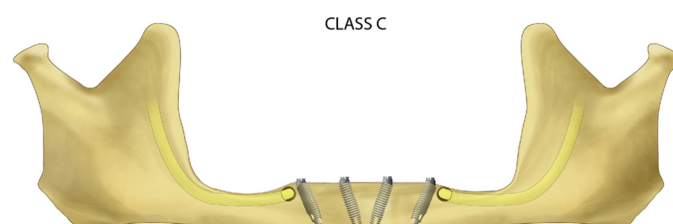
**Gráfico 5** - Tipos de próteses sobre implantes, (adaptado Turkyilmaz, & Nicoll, 2011)

Estudos efectuados por diferentes autores demonstram uma taxa de sobrevivência implante/prótese superior a 90%, tanto em estratégias de 6 como 4 implantes, pelo que não é possível demonstrar um número e distribuição ótima de implantes em próteses totais implantosuportadas (Heydecke *et al.*, 2012).



A reabilitação de desdentados totais com implantes pode ser efetuada com carga imediata, carga mediata e “*delayed loading*”. No encontro de 2002 a Sociedade Espanhola de Implantologia definiu: carga imediata quando a prótese é colocada no mesmo dia que os implantes; carga mediata quando a prótese é colocada antes dos 3/6 meses da osteointegração e “*delayed loading*” após a osteointegração (Peñarrocha-Oltra, Covani, Peñarrocha-Diago & Peñarrocha-Diago, 2013). No que respeita à reabilitação protética total implantosuportada a mais frequente é a reabilitação metal/acrílico aparafusada, onde a prótese é composta por uma estrutura metálica e uma base feita em acrílico (Papaspnyridakos, Mokti, Chen, Benic, Gallucci & Chronopoulos, 2013; Kwon, Bain & Levin, 2014).

Os doentes encaminhados para este tipo de reabilitação sofrem na sua maioria perda precoce de peças dentárias e conseqüentemente uma diminuição da crista óssea nas regiões posteriores da mandíbula e maxila. A acrescentar a este fator, certos compartimentos fisiológicos como os seios maxilares, as fossas nasais e o canal do nervo alveolar inferior, dificultam a colocação de implantes nestas regiões (Jensen, 2014).



**Figura 7** - Abordagem *all-on-4*<sup>TM</sup> (adaptado de Jensen, 2014)

Para colmatar as situações acima descritas, foi desenvolvido um conceito de 4 implantes denominado *all-on-4*<sup>TM</sup>, que permite solucionar o problema sem ter de recorrer a técnicas mais demoradas e dispendiosas como as elevações de seio ou o desvio do nervo alveolar inferior (Figura 7) (Malo, Nobre, Lopes, Moss & Molina, 2011; Patzelt, Bahat, Reynolds & Strub, 2013). Este tratamento passa por utilizar 4 implantes, 2 anteriores retos e 2 posteriores angulados, permitindo uma melhor distribuição das cargas sem comprometer as estruturas adjacentes (Malo *et al.*, 2011; Ho & Jovanovic, 2014). Desta forma, é possível distribuir na arcada dentária 10 peças dentárias com um máximo de 1 peça dentária a distal de cada *cantilever* (Malo *et al.*, 2011). Para além deste sistema, pode ser ainda utilizado na maxila o *All-on-4 Hybrid* and *All-on-4 Extra-Maxilla*. No *All-on-4 Hybrid* dois implantes são colocados na região anterior da maxila e um implante em cada osso zigomático; por outro lado no *All-on-4*

*Extra-Maxilla*, os quatro implantes estão exclusivamente retidos no osso zigomático (Malo *et al.*, 2011).

#### *1.4.2 - Vantagens e desvantagens das próteses sobre implantes*

As próteses totais implantosuportadas oferecem uma alternativa vantajosa na reabilitação de mandíbulas edêntulas (Cooper, 2008): permitem a manutenção do osso alveolar, por estimulação mastigatória e pelas cargas sobre os implantes; melhora a estética e a fonética, permitindo a manutenção ou aumento da dimensão vertical, e uma vez que apresenta menores dimensões na região do palato ou abas, permite uma melhor percepção dos alimentos e da fonética; permite também um melhor controlo e distribuição das cargas oclusais sobre os diferentes implantes, com absorção das forças por parte do osso, que em última análise leva a um aumento da força oclusal; por último, possibilita uma melhor saúde psicológica e a percepção de reconhecimento da prótese como “fazendo parte de si mesmo” (Misch, 2007; Volpato *et al.*, 2012).

As próteses fixas híbridas, podem apresentar diversos problemas para a maxila, principalmente quando existe uma ampla reabsorção alveolar. A extensão das abas da prótese para vestibular, necessárias para se obter um correto suporte labial, pode por vezes criar áreas de difícil higiene, onde a comida e a placa bacteriana se acumulam (Cooper, 2009; Bueno-Samper A. *et al.*, 2010). A diminuição destas abas vestibulares, provocam no doente uma sensação de passagem de ar e saliva. No entanto, nos casos em que a saída dos implantes é feita a nível vestibular, envolvendo problemas estéticos, as próteses removíveis tornam-se numa boa alternativa. (Bueno-Samper A. *et al.*, 2010).

## **2 - MICROFLORA ORAL**

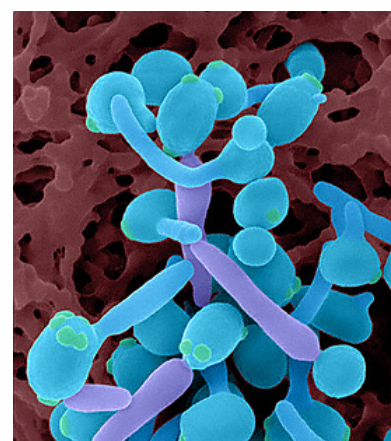
A microflora oral caracteriza-se por uma ampla gama de espécies de vírus, bactérias, fungos e em alguns casos protozoários (Belibasakis, 2014).

A cavidade oral é composta por múltiplos *habitats*, tais como os dentes, sulcos gengivais, língua e palato duro, que permitem a colonização de vários microrganismos (Cho, Nagao, Imayoshi & Tanaka, 2014), fazendo desta uma das floras mais complexas do corpo humano (Sampaio-Maia & Monteiro-Silva, 2014). Esta flora tem um papel preponderante na manutenção da saúde, pelo que a alteração da mesma é um indicativo e um gatilho para o desenvolvimento de doenças, tanto orais como sistémicas (Ghannoum *et al.*, 2010).

Com o início do milénio, a microbiologia oral revolucionou-se através do desenvolvimento de tecnologias, como a sequenciação e análise genómica de grande escala, permitindo identificar a vasta coleção de microrganismos presentes na cavidade oral (Cho *et al.*, 2014). Até então, acreditava-se existir pouco mais de 700 espécies de microrganismos, contudo, hoje acredita-se que pode chegar aos 19000 filotipos, sendo que na sua maioria estes microrganismos não foram ainda passíveis de serem cultivados (Aas, Paster, Stokes, Olsen & Dewhirst; 2005, Maia & Silva, 2014). Das espécies já isoladas aproximadamente 280 são bactérias e 70 são fungos (Dewhirst *et al.*, 2010; Ghannoum *et al.*, 2010). Alguns autores levantam a hipótese da inibição de desenvolvimento de microrganismos patogénicos na cavidade oral, provocado pela interação entre fungos e bactérias (Krom, Kidwai & Cate, 2014).

## 2.1 - Género *Candida*

A *Candida* é um género de fungo dimórfico, diplóide e gram positivo, capaz de viver como um organismo comensal na cavidade oral de indivíduos saudáveis (Figura 8) (Salerno *et al.*, 2011). O genoma da *C. albicans*, a espécie mais frequentemente isolada na cavidade oral, é composto por oito pares de cromossomas homólogos com variações de tamanho entre os 0,9 a 3,3 Mb com um total de 16 Mb. Tem uma elevada plasticidade, resultando frequentemente em perda de heterozigotia (McManus & Coleman, 2013).



**Figura 8** - *C. albicans* imagens MEV (adaptado de Dennis Kunkel Microscopy, 2004)

Distinguem-se 150 espécies dentro deste género, distribuídos no solo, ambientes aquáticos e no organismo de diversos animais (Manfredi *et al.*, 2013). Embora a espécie *C. albicans* seja a mais prevalente, outras espécies de *Candida* podem ser encontradas no meio oral, tais como *C. dubliniensis*, *C. krusei*, *C. glabrata* e *C. tropicalis* (Cavaleiro, 2009). O destaque dado a espécies não-*albicans* deve-se ao aumento de doentes imunocomprometidos, como é exemplo dos portadores de VIH, *diabetes mellitus* e os sujeitos a terapias imunossupressoras. De um modo geral, as espécies *C. não-albicans* têm maior resistência à terapia antifúngica, desencadeando taxas mais elevadas de mortalidade por candidemia (Bürgers *et al.*, 2012).

A *Candida* spp. possui como características a capacidade de se reproduzir em

condições aeróbias e anaeróbias (Williams & Lewis, 2011), podendo ainda reproduzir-se assexuadamente por um processo de gemulação, através de protusões protoplásmicas que emergem da célula mãe e que se destacam no final do seu crescimento (Castellote, 2013). A espécie *C.albicans* detém o maior valor de adesão ao epitélio oral face às outras espécies de *Candida*, o que ajuda a explicar a sua prevalência (Silva, 2013). Além de aderir ao epitélio, é também encontrada em vários dispositivos artificiais tais como os implantes dentários, próteses da anca e pacemakers. Esta associação resulta do elevado potencial que as leveduras, em geral, têm de aderir aos biomateriais (William, 2011; Salerno *et al.*, 2011; Bürgers *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2012; McManus & Coleman, 2013).

A virulência de *C. albicans* está associada a vários fatores, entre eles a formação de hifas, que facilitam a adesão e penetração nos tecidos humanos, estando correlacionado com o desenvolvimento de processos patogénicos (Li, 2012; Manfredi *et al.*, 2013).

#### *2.1.1 – Colonização versus infeção*

*C. albicans* é um microrganismo oportunista com a capacidade de converter o seu estado comensal em patogénico na mucosa oral. Esta mudança depende de um ambiente predisponente, tanto local como sistémico, mas também dos fatores de virulência do próprio organismo (Gasparoto, Vieira, Porto, Campanelli & Lara, 2009). O desenvolvimento da infeção, candidíase oral, resulta da desregulação das defesas do hospedeiro (Manfredi *et al.*, 2013).

A colonização por este microrganismo dá-se em três fases. A primeira fase passa pela adesão a uma camada basal, que corresponde ao início da fase de incubação. A regulação da mesma é feita por fatores inespecíficos como a hidrofobicidade e a interação eletroestática, bem como fatores específicos, como o fibrinogénio e a fibronectina. Numa segunda fase, a célula aderida multiplica-se de forma contínua dando-se a transformação das células em hifas. Esta multiplicação forma uma estrutura complexa constituída por leveduras, pseudohifas e hifas. Na terceira e última fase, dá-se a maturação e aumento de substâncias extracelulares que permitem a formação do biofilme protegendo os fungos da ação da saliva e dos antifúngicos, bem como a adesão das hifas às estruturas adjacentes (Manfredi *et al.*, 2013; Park S, Han, Park J, Choi & Lee, 2014). A formação da fase hifa é influenciada pela disponibilidade de nutrientes, pH e temperatura (Tyc, Kühn, Wilson & Klipp, 2014).



**Gráfico 6** – Fatores de virulência da *C. albicans* (adaptado de Williams & Lewis, 2011)

Atribuem-se diversos fatores de virulência à *C. albicans* identificados no Gráfico 6. Tal como foi falado anteriormente, a adesão de *Candida* ao hospedeiro é fundamental no processo de colonização, sendo esta promovida por adesinas e pela hidrofobicidade celular. A ação do *wash out* salivar e a descamação das células epiteliais impedem a adesão destes microrganismos dificultando a colonização (Williams & Lewis, 2011).

A presença de hifas dificulta a fagocitose e aumenta a adesão às superfícies, e a capacidade de invadir as camadas epiteliais que resulta na destruição tecidular. As proteases aspárticas segregadas (PAS) são proteínas produzidas por *C. albicans* que degradam proteínas humanas e facilitam a invasão dos tecidos e aumentam a adesão por exposição dos receptores e degradação das imonoglobulinas e proteínas de defesa do hospedeiro. Por outro lado, as fosfolipases degradam a membrana celular permitindo a lise e consequente morte da célula (Williams & Lewis, 2011). Por último, o fenótipo *switching* de *C. albicans* aumenta grandemente a sua virulência, por alteração da regulação genética como resposta aos tratamentos antifúngicos e às defesas dos hospedeiros, permitindo aos microrganismos adaptarem-se ao novo ambiente (Williams & Lewis, 2011). O sistema imunológico atua como um fator condicionante, influenciando o equilíbrio entre a adesão, colonização e a infecção. As superfícies do tecido do hospedeiro, promovem a interação física entre fungos e as proteínas de superfície, permitindo a adesão e formação do biofilme, que por sua vez facilita o estabelecimento da doença e o desenvolvimento das infecções por candidíase. (Rossi *et al.*, 2011).

### *2.1.2 – Fatores de predisposição do hospedeiro*

Os fatores predisponentes do hospedeiro incluem-se em diferentes categorias nomeadamente (Castellote & Soriano, 2013):

- alterações endócrinas;
- depressão imunológica;
- supressão imunológica;
- lesões malignas;
- tratamentos farmacológicos;
- hipossalialia;
- envelhecimento.

Fazem parte das alterações endócrinas, o *diabetes mellitus*, a gravidez, a falência renal e o hipertireoidismo. Por outro lado, a depressão imunológica está frequentemente associada aos tratamentos antineoplásicos e imunossuppressores ou defeitos imunocelulares (Tyc *et al.*, 2014). No campo da supressão imunológica, o seu melhor exemplo é o síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA) e a neutropénia. Estudos indicam que os neutrófilos estão relacionados com a destruição de *C. albicans*, (Tyc *et al.*, 2014). Os linfomas e as leucemias, anemia aplástica entram na categoria das lesões malignas associadas ao desenvolvimento de candidíase, já os antibióticos de largo espectro, os corticóides, antidepressivos e antineoplásicos entram na categoria dos tratamentos farmacológicos. O síndrome de Sjögren, bem como a radioterapia provocam hipossalialia (diminuição da produção de saliva), o que impede o correto *wash out*, assim como a diminuição da interação das mucinas com o biofilme. Por último, o avançar da idade, traz consigo todo o conjunto de situações supra descritas, pelo que, por si só, os doentes idosos, tanto pela polimedicação, como pelas alterações fisiológicas, assim como pelo uso de prótese, têm uma maior predisposição para o desenvolvimento de candidíase (Cavaleiro, 2009; Williams & Lewis, 2011, Castellote & Soriano, 2013 e McManus & Coleman, 2013). A má adaptação protética, a perda de dimensão vertical, o uso crónico de antissépticos, a má higiene oral, bem como o consumo de tabaco e álcool, surgem entre os fatores de risco mais enunciados no desenvolvimento de microrganismos. (Castellote & Soriano, 2013).

## 2.2 – Placa Protética

As propriedades do habitat têm um caráter seletivo, ditando quais os organismos capazes de colonizar, crescer e ter um papel maior ou menor na comunidade microbiana (Marsh, Moter & Devine, 2011; Belibasakis, 2014). As regiões de estagnação salivar como são exemplo as regiões adjacentes às prótese dentárias, oferecem proteção contra o *wash out* e a remoção mecânica, criando microambientes que favorecem a acumulação de microrganismos. (Marsh *et al.*, 2011). Estes tendem a formar na superfície da prótese uma placa microbiana (biofilme) designada como placa protética. A redução do pH em relação aos níveis fisiológicos, permite a produção de fosfolípases e proteínases pelas leveduras, bem como a acumulação de nutrientes, fazendo destes locais, nichos perfeitos para o desenvolvimento fúngico (Cavaleiro, 2009; Williams & Lewis, 2011). Os microrganismos presentes na cavidade oral interagem de diferentes formas entre si, quer seja pelo uso direto dos seus produtos metabólicos, quer pela troca de sinais moleculares. A coagregação entre os microrganismos incluem interações hidratos de carbono-proteína (Salerno *et al.*, 2011). Segundo a hipótese da placa ecológica, a relação entre os microrganismos e o hospedeiro, definem a saúde ou a doença dos tecidos orais (Belibasakis, 2014).

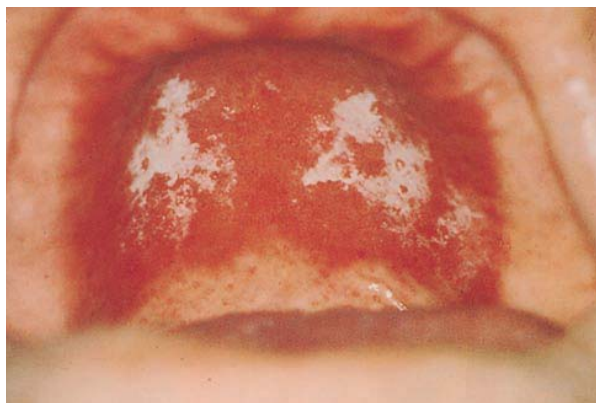
A microbiologia da placa protética tem recebido pouca atenção comparativamente à placa dentária. É constituída principalmente por bactérias que revestem as superfícies duras dos dentes, envolvida por uma matriz de polissacáridos produzida pelas mesmas (Coulthwaite & Verran, 2007). O material de confecção da base protética atua como um reservatório para a acumulação de microrganismos, que exploram as microfissuras e os *cracks* (Williams & Lewis, 2011). A quantidade de placa protética varia quanto à sua localização (maior acumulação na maxila), bem como, na sua composição (presença mais relevante de leveduras) (Coulthwaite & Verran, 2007). A microflora oral salivar, em doentes edêntulos com próteses dentárias é constituída por bactérias colonizadoras da prótese, da mucosa oral e principalmente da língua (Coulthwaite & Verran, 2007).

Vários estudos microbiológicos verificaram que a placa acumulada em próteses dentárias tem uma composição complexa, representada por bactérias Gram positivas, como é exemplo *Streptococcus* spp, *Staphylococcus* spp, *Actinomyces* spp e leveduras dominado pela *C. albicans* (Marsh *et al.*, 2011; Salerno *et al.*, 2011).

### 3 - PATOLOGIA ORAL

#### 3.1 - Mucosite Protética

Mucosite protética é um processo inflamatório, que se manifesta por zonas de eritema na mucosa oral (Figura 9). Caracteriza-se por um processo multifatorial associado à presença de *C. albicans* referido por Bürgers (2010) ou de outros microrganismos, bem como a diversos fatores locais e sistêmicos, nomeadamente: o uso de prótese; o pH salivar ácido; a elevada ingestão de hidratos de carbono; a terapia antibiótica prolongada; a terapia hormonal; a *diabetes mellitus* ou a hipertensão arterial (Turker, 2009; Emami, 2013; Koteswara, Kamalakanth, Lakshmi & Mereddy, 2013; Martori, 2014).



**Figura 9** – Mucosite protética no palato de um desdentado total (Adaptado de Laskaris, 2006)

A inflamação local, causada pela fricção da prótese pode contribuir para a invasão do epitélio pelas leveduras, desencadeando a candidíase. A utilização da prótese durante a noite ou o seu desajuste piora a situação clínica. Concomitantemente, a prótese funciona como um reservatório microbiano, constituindo um risco tanto para o portador como para a comunidade (Cavaleiro, 2012).

O uso noturno e contínuo da prótese, pode reduzir o efeito protetor da saliva, diminuir o efeito higiénico e de massagem das mucosas pela língua, bem como diminuir a oxigenação da mucosa palatina (Emami *et al.*, 2013).

Newton propôs em 1962 uma classificação para a mucosite protética dividindo-a em três tipos:

- Tipo I: inflamação localizada simples;
- Tipo II: eritema difuso, cobrindo parcial ou totalmente a área recoberta pela prótese;



- Tipo III: tipo granuloso, hiperplasia inflamatória papilar, que envolve geralmente a parte central do palato duro e do rebordo alveolar. Geralmente associado à inflamação crônica provocada pela colonização de leveduras. (Koteswara, *et al.*, 2013).

Martori (2014) refere em estudos que aproximadamente metade dos portadores de prótese apresentam pelo menos uma lesão relacionada com o uso da mesma, sendo a mucosite protética, a queilite angular e a úlcera traumática as mais prevalentes, não estando no entanto, os fatores de risco diretamente associados completamente esclarecidos.

A desinfecção e a antissepsia, conseguem ser tão eficientes como a terapia antifúngica no tratamento da mucosite protética (Emami *et al.*, 2013). No entanto, a remoção da prótese durante a noite e o rebasamento e ajuste da prótese quando indicado, apresentam-se como soluções válidas para a redução da infecção (Cooper, 2008; Emami *et al.*, 2013).

Os portadores de prótese total devem ser instruídos por um clínico sobre a importância do exame periódico: devido às alterações dos tecidos de suporte; à detecção antecipada de lesões e à necessidade de manter a higiene oral e protética em níveis ótimos, a fim de evitar o desenvolvimento de patologia (Turker *et al.*, 2009).

### 3.2 - Candidíase Oral

Candidíase é a micose mucocutânea mais frequente da cavidade oral, surgindo frequentemente em doentes imunossuprimidos devido a doenças debilitantes e causas concomitantes (Chakravarthi & Haleagrahara, 2011; Williams & Lewis, 2011). As infecções provocadas por espécies de *Candida* e outros fungos aumentaram drasticamente nos últimos anos devido ao aumento deste tipo de doentes. Em regra geral indivíduos imunocompetentes não são afectados por este tipo de doença (Bhat *et al.*, 2013).

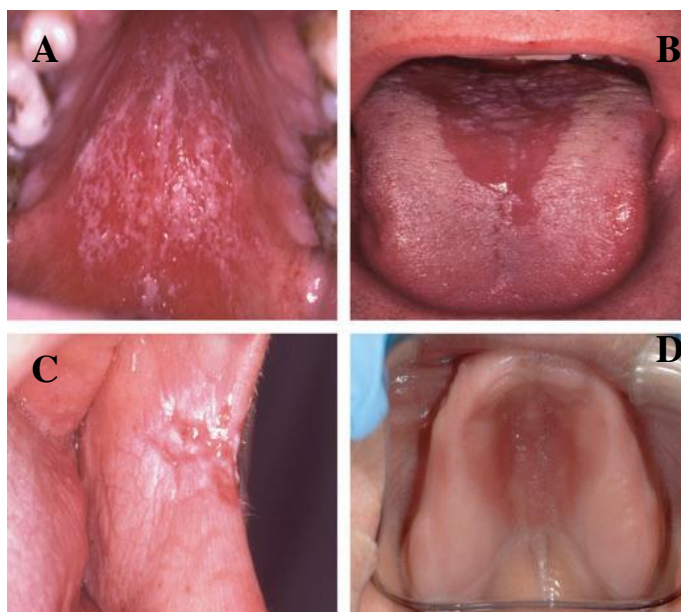
A patogenicidade da *Candida* resulta da combinação de três fatores, são eles: portador, espécie e fatores modificantes do microambiente. O diagnóstico de qualquer forma de candidíase é essencialmente clínico, sendo baseado no reconhecimento de lesões, confirmado *a posteriori* em microscópio pela presença de *Candida* nas amostras orais ou pelo isolamento de culturas (Castellote, 2013). Neste tipo de infecção, a *C. albicans* encontra-se presente em 50% dos casos, no entanto, nos últimos anos tem-se

registado um aumento das espécies *C. não-albicans* no desenvolvimento de candidíase sistémica. O aumento de todas as formas de candidíase reflete as mudanças no tipo de intervenção médica, recorrendo a procedimentos cirúrgicos mais invasivos, uso diversificado de terapia imunossupressora, bem como o recurso a antibióticos de largo espectro (Williams & Lewis, 2011).

A candidíase oral não se caracteriza por uma infecção única, tendo geralmente quatro formas primárias descritas consoante o tipo de apresentação clínica (Figura 10) (Williams & Lewis, 2011):

- Candidíase pseudomembranosa aguda: apresenta-se sobre a forma de lesões brancas na mucosa oral, sendo que o seu diagnóstico é confirmado pela remoção das placas que se formam por raspagem, deixando para trás uma superfície eritematosa. O exame histológico geralmente revela células epiteliais descamativas.
- Candidíase eritematosa aguda: caracteriza-se pela vermelhidão na região do palato e língua, sendo a única forma de candidíase com permanência dolorosa. Geralmente a sua resolução é espontânea por restabelecimento da flora saprófita após termino do tratamento antibiótico. A sua forma crónica é frequente em doentes portadores de VIH.
- Candidíase hiperplástica crónica: neste tipo de candidíase as lesões não são passíveis de serem removidas por raspagem. Geralmente ocorre bilateralmente nas comissuras labiais. Existe uma maior prevalência em homens de meia idade fumadores. Uma característica deste tipo de candidíase é a penetração do epitélio oral pela fase de hifa da *C. albicans*.

No que toca ao controlo e tratamento, os dois principais objetivos passam pela diminuição da proliferação pelo organismo e redução dos fatores favoráveis ao desenvolvimento de *Candida* (Chakravarthi & Haleagrahara, 2011).

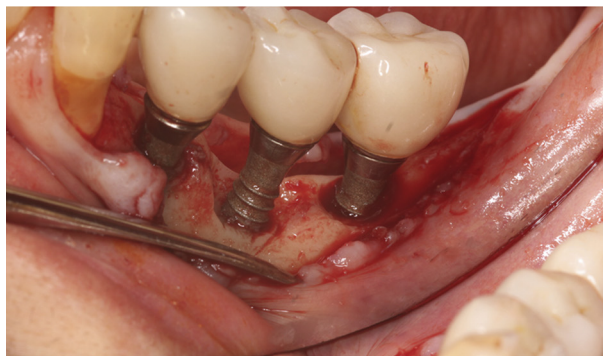


**Figura 10** – Diferentes apresentações clínicas de candidíase oral. (A) Candidíase pseudomembranosa, (B) Candidíase eritematosa aguda, (C) Candidíase hiperplásica crónica, (D) Candidíase eritematosa crónica (Adaptada de Viegas, 2013)

### 3.3 - Perimplantite

A adesão de microrganismos orais e a subsequente formação de biofilme patogénico na superfície de implantes dentários resulta na infeção dos tecidos perimplantares e em último caso na perda dos implantes (Bürgers, 2010; Real-Osuna *et al.*, 2012 e Belibasakis, 2014).

A doença perimplantar tem um carácter inflamatório desencadeando a destruição dos tecidos duros, bem como dos tecidos moles em torno do implante dentário (Figura 11) (Koyanagi *et al.*, 2010). Podem-se distinguir dois tipos diferentes de doença perimplantar: a mucosite perimplantar, caracterizada pela inflamação reversível do epitélio, perda de tecido conetivo, alterações microvasculares e aumento do infiltrado de linfócitos B e T, bem como neutrófilos e macrófagos (Belibasakis, 2014); a perimplantite, caracterizada por uma infeção dos tecidos circundantes mais marcada que na periodontite, levando à reabsorção óssea, diminuição da osteointegração e perda do implante (Bürgers *et al.*, 2012). Esta reação exacerbada deve-se à ausência das *fibras de Sharpey* em torno do implante, características dos tecidos periodontais.



**Figura 11** – Reabsorção óssea ao redor dos implantes característico da perimplantite (Adaptado de Mishler *et al.*, 2014)

O diagnóstico da doença perimplantar deve ser tanto clínico como radiológico. Esta caracteriza-se pela hemorragia ou supuração à sondagem, destruição óssea superior a 2mm visualizada na radiografia periapical e a mobilidade do implante. Estes fatores, permitem verificar a viabilidade e manutenção do implante a médio e a longo prazo (Belibasakis, 2014). A ausência de hemorragia à sondagem em doentes não fumadores é um indicador de condição perimplantar estável (Algraft, 2012).

Estudos em cães indicam que os tecidos perimplantares têm uma capacidade limitada de regenerar lesões associadas à placa bacteriana. Deste modo, podemos constatar que um estado de saúde perimplantar é fundamental para uma estabilidade a longo prazo do implante (Algraft, 2012).

De entre os fatores de risco associados à doença perimplantar destacam-se: o consumo de tabaco, a má higiene oral, as condições sistémicas, tais como, *diabetes mellitus*, a suscetibilidade genética e a história prévia de periodontite (de Waal, van Winkelhoff, Meijer, Raghoobar & Winkel, 2013; Belibasakis, 2014). De referir ainda o stress oclusal e as infeções bacterianas (Koyanagi *et al.*, 2010; Armas, 2013). Quatro revisões sistemáticas concluíram que há um risco acrescido de perimplantite em fumadores (AAP, 2013).

Em indivíduos saudáveis, a flora microbiana perimplantar é constituída por cocos Gram positivos e bacilos, bem como um número limitado de espécies Gram negativas anaeróbias. Em situação de doença perimplantar, dá-se o aumento da presença de cocos, bacilos e espiroquetas, bem como o desenvolvimento de espécies gram negativas e anaeróbias encontradas na periodontite. Foram também encontrados *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *E. coli*, *Pseudomonas spp.* e *Candida ssp.*, no entanto, estas espécies são incomuns na doença periodontal. (Bürgers, 2010;

Nascimento *et al.*, 2013; Belibasakis, 2014). Foram identificados por dois autores *C. albicans* em doentes portadores de perimplantite, contudo é de salientar a necessidade de mais estudos longitudinais, por forma a compreender o papel das leveduras nesta doença (Mombelli, 1993; Leonhardt, 1999).

#### 4 - DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO

As comunidades microbianas têm um papel preponderante na saúde individual pelo que, uma melhor compreensão da sua complexidade dinâmica poderá constituir o próximo passo para o desenvolvimento de ferramentas médicas de diagnóstico. Pretende-se do Médico Dentista um conhecimento médico apropriado de forma a proceder a um diagnóstico correto, que lhe permita desenhar uma terapia e profilaxia adequadas (Cavaleiro, 2009 e Carvalho, 2010). Uma rápida e correta identificação das espécies de *Candida* tem um papel preponderante no controlo da infeção e na diminuição dos níveis de mortalidade (Neppelenbroek *et al.*, 2014). Na prática clínica, a identificação das leveduras baseia-se, em regra geral, através da análise das características fenotípicas, sendo um processo demorado e com resultados por vezes indiscriminados. Contudo, o recurso a técnicas moleculares tem demonstrado ser uma poderosa ferramenta na genotipagem de fungos (Cavaleiro, 2009).

A identificação da espécie de *Candida* pode ser realizada com base em quatro critérios: morfológicos e bioquímicos, no diagnóstico de candidíase oral; imunológicos e genéticos, para diagnóstico de candidemia invasiva ou para a diferenciação de espécies, como acontece com a *C. albicans* e a *C. dubliniensis* (Castellote & Soriano, 2013).

#### 5 - TERAPÊUTICA

Comparativamente aos agentes antibacterianos, a disponibilidade dos antifúngicos é significativamente baixa, isto deve-se à semelhança entre os fungos e os mamíferos por serem igualmente eucariotas e partilharem várias funções.

No que respeita à mucosite protética e a candidíase oral, a estratégia passa pelo uso tópico ou sistémico de antifúngicos. As duas classes de antifúngicos mais prescritas no tratamento de candidíase são os polienos e os azóis (Williams & Lewis, 2011; AL-Dwairi, AL-Quran & AL-Omari, 2012). Na classe dos polienos, são reconhecidos a

anfotericina b e a nistatina. O seu mecanismo de ação passa pela ligação ao ergosterol presente na membrana das células fúngicas, induzindo a fuga do conteúdo citoplasmático e consequentemente a morte da célula (Williams & Lewis, 2011). No que respeita aos azóis, o fluconazole e o itraconazole são os mais prescritos. O seu mecanismo de ação tem igualmente como alvo o ergosterol, no entanto ao invés de interagir diretamente com este, impede a sua produção por ligação à enzima lanosterol demetilase responsável pela sua produção. A depleção do ergosterol resulta na inibição do crescimento fúngico e aumenta a permeabilidade da membrana. Ao contrário dos polienos, os azóis têm a vantagem de ser rapidamente absorvidos pelas mucosas permitindo uma fácil administração por via oral (Williams & Lewis, 2011).

Contudo, tem-se assistido nos últimos anos, ao aumento da resistência por parte de algumas espécies de *Candida* a esta terapêutica. O mecanismo passa por uma sobreprodução ou mutação da enzima lanosterol dimetilase, como é o caso da *C. glabrata* e *C. krusei* que exibem resistência ao fluconazole (Williams & Lewis, 2011). Desta forma, surgiram as equinocandinas, que atuam pela inibição da enzima G-glucano sintetase necessária para a síntese da membrana celular, tendo a vantagem de não estar presente nas células dos mamíferos, reduzindo assim a sua toxicidade para o hospedeiro (Williams & Lewis, 2011). Verificou-se que concomitantemente ao uso de antifúngicos, as consultas de controlo da reabilitação oral com prótese são fundamentais para a redução eficaz dos microrganismos. A higienização da prótese pode ser feita recorrendo a desinfetantes, como a clorhexidina; a irradiação de micro-ondas e o controlo mecânico da placa. Outros autores, acrescentam ainda que a simples limpeza mecânica e a sua remoção durante o sono são suficientes para o controlo da mucosite (Salerno *et al.*, 2011; Manfredi *et al.*, 2013).

## 6 – HIGIENIZAÇÃO

Os protocolos de higienização dos implantes e das PTIS são raramente descritos ou padronizados, pelo que, as recomendações feitas pelo clínico têm por base os conhecimentos pré-existentes da higiene dentária (Louropoulou, Slot & Weijden, 2014). Os doentes reabilitados com este tipo de prótese, devem realizar uma manutenção adequada através do controlo mecânico e químico, associados a uma avaliação regular por parte do médico dentista, de forma a permitir a prevenção e a intervenção atempada da instalação da doença (Real-Osuna *et al.*, 2012; Louropoulou *et al.*, 2014). O controlo

do biofilme, é conseguido por todo um conjunto de técnicas que têm como objetivo a remoção dos microrganismos e a prevenção da recorrência de infecção inflamatória (Soares, 2009; Nader, Eimar, Momani, Shang, Daniel & Tamimi, 2014). A fim de obter os melhores resultados, o desenho da prótese deverá permitir e facilitar o processo de higienização de modo a impedir a acumulação de restos alimentares e a formação de placa bacteriana e desta forma impedir o desenvolvimento de perimplantite (Soares, 2009; Real-Osuna *et al.*, 2012; Cortelli *et al.*, 2013). A má higiene oral está, regra geral, associada à falta de orientação do doente, às características da prótese, à diminuição da destreza manual do doente e à falta de produtos de limpeza específicos existentes no mercado (Carvalho, 2010).

### 6.1 – Controlo em casa

O uso de escova e pasta dentífrica, têm sido o método de higienização mais utilizado e estudado até a data, dando provas da sua eficácia enquanto removedores da placa bacteriana (Lindhe *et al.*, 2008). Contudo, estudos recentes revelam que as escovas elétricas têm uma eficácia semelhante às escovas manuais na limpeza de próteses totais implantosuportadas, com a vantagem de facilitar o processo de higiene por indivíduos com fraca destreza manual e capacidade motora reduzida (figura 18) (Louropoulou *et al.*, 2014). Concomitantemente ao uso da escova e pasta, existem diversos métodos complementares geralmente usados pela ortodontia, revelando-se uma mais valia na higiene sobre as próteses totais implantosuportadas, tais como o escovilhão de *nylon*, o passa fio e as escovas unitufo (Figura 18). Recomenda-se ainda, a utilização de escovas com cabeças de menor dimensão de forma a facilitar o acesso às zonas posteriores da prótese (Todescan, Lavigne & Kelekis-Cholakis, 2012; Nader *et al.*, 2014). Um outro método descrito na literatura com provas dadas da sua eficácia é o jato de água que permite remover os restos de alimentos e a placa bacteriana das regiões de difícil acesso, através das forças hidrodinâmicas pulsáteis exercidas pela água ou líquido desinfetante que percorre o sistema, bem como reduzir a profundidade de sondagem, sangramento e gengivite quando usado simultaneamente com outros métodos de higiene (Figura 12) (Lindhe *et al.*, 2008 e Jahn, 2010).

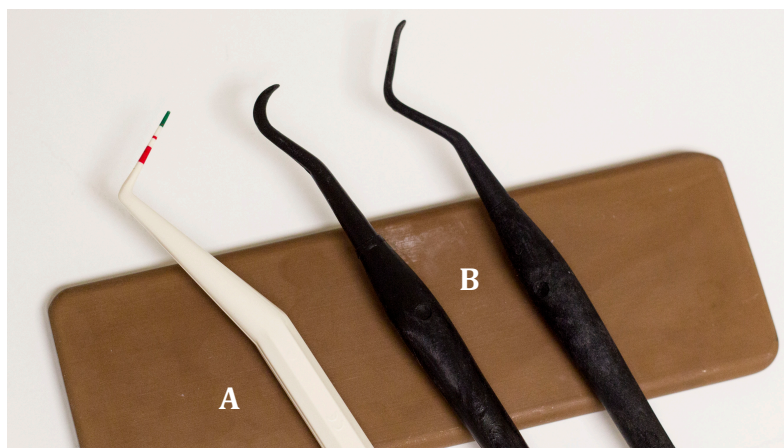


**Figura 12** – Métodos de higiene oral em casa. (A) Passa fio e escovilhão; (B) Jato de água; (C) escova elétrica (Adaptado de Murgueitio *et. al.*, 2014)

## 6.2 – Controlo em consultório

Segundo a *American Academy of Periodontology* (AAP) “os doentes devem ser avaliados em intervalos regulares de forma a monitorizar o estado dos tecidos perimplantares, a condição da prótese implantosuportada e o controlo de placa” (Todescan *et al.*, 2012). Estes autores reforçam ainda, a importância do papel da revisão e ensino ao doente de uma higiene oral correta, bem como a instituição de medidas preventivas adaptadas individualmente. A inflamação dos tecidos deve ser verificada com recurso a uma sonda plástica na região dos sulcos ou bolsas. Após a avaliação da prótese e dos tecidos perimplantares o uso de curetas plásticas ou revestidas a carbono permitem a descontaminação do pilar protético e do colar do implante. Podem ainda ser usadas taças e escovas de polimento, bem como jactos de bicarbonato de sódio, tanto no implante como na prótese (Figura 13) (Mishler & Shiau, 2014). Os doentes com historial de doença periodontal e com maior risco de desenvolvimento de patologia perimplantar devem ser ter um seguimento mais rigoroso. Nos casos de perimplantite instalada, o desbridamento do tecido afectado e a aplicação de clorhexidina, permitem a diminuição do sangramento e da inflamação dos tecidos, no entanto, outras alternativas como o uso de laser de granada ítrio-alumínio enriquecido com érbio (Er:YAG) ou o jacto de ácido cítrico têm sido estudadas (Todescan *et al.*, 2012).





**Figura 13** – Manutenção de implantes (A) Sonda periodontal de plástico; (B) curetas de carbono

## **B - OBJETIVOS E HIPÓTESES DE ESTUDO**

### **1. OBJETIVOS**

Através do estudo morfológico e genético das amostras recolhidas em 30 doentes desdentados totais, reabilitados com próteses totais acrílicas implantosupportadas provenientes do ISCSEM, da Clínica do Prof. Doutor Sérgio Félix e do Prof. Doutor Paulo Maurício pretendemos:

- Identificar e quantificar a microflora fúngica presente no sulco perimplantar das próteses totais acrílicas implantosupportadas;
- Identificar e quantificar a microflora fúngica presente no rebordo adjacente às próteses totais acrílicas implantosupportadas;
- Comparar a microflora de doentes portadores de próteses totais acrílicas mucosuportadas com a de portadores de prótese totais acrílicas implantosupportadas.

### **2. HIPÓTESES EM ESTUDO**

Hipótese Nula: Não existem diferenças estatisticamente significativas entre a flora fúngica de doentes portadores de próteses totais acrílicas mucosuportadas e próteses totais acrílicas implantosupportadas.

Hipótese alternativa: A flora fúngica de doentes portadores de próteses totais acrílicas mucosuportadas e próteses totais acrílicas implantosupportadas é diferente.

## II - Materiais e Métodos

### 1 - QUESTÕES ÉTICAS

A realização do estudo pressupôs um pedido por escrito de autorização à Direção da Clínica Universitária Egas Moniz, bem como a respectiva aprovação pela Comissão Científica e pela Comissão de Ética do ISCSEM tal como descrito no Anexo I e II.

A recolha de amostras em clínicas externas foi tutelada pelo orientador do projeto e autorizado pelos diretores clínicos dos locais das recolhas (Anexo III e IV).

Todos os doentes participantes no estudo foram devidamente informados dos objetivos do mesmo e seus pressupostos, e só os que assinaram o consentimento foram incluídos no estudo (Anexo V).

### 2 - AMOSTRA ESTUDADA

O presente estudo foi realizado em doentes desdentados totais inferiores e superiores, reabilitados com próteses totais acrílicas implantosuportadas e posteriormente os dados foram comparados com as próteses totais acrílicas mucosuportadas.

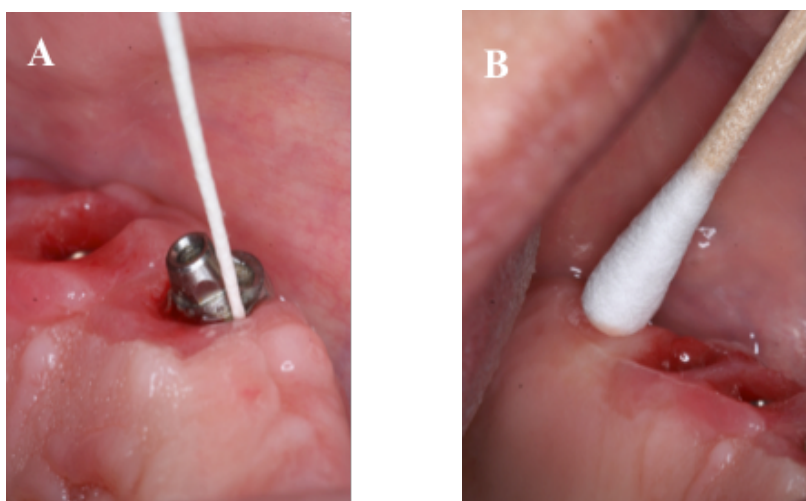
O estudo envolveu 30 doentes com idades compreendidas entre os 41 e os 80 anos, de ambos os sexos, portadores de próteses totais acrílicas implantosuportadas, segundo os critérios de inclusão e exclusão abaixo mencionados.

Foram utilizados como **Critérios de inclusão**: doentes com idade superior a 18 anos; com uso de uma prótese total acrílica implantosuportada há mais de 3 meses. Como **Critérios de exclusão**: doentes submetidos a antibioterapia local ou sistémica nos últimos 6 meses; terapia fúngica no último mês (risco de existirem alterações no sinergismo entre bactérias e fungos); padecerem de patologias imunocomprometedoras tais como a *diabetes mellitus* ou sofrerem de mucosite protética grau II e III.

### 3 - RECOLHA DAS AMOSTRAS

Antes da recolha da amostra foi realizada uma observação clínica da cavidade oral do doente, registada em documento preparado para o efeito, bem como a aplicação de um questionário (anexo VII). Com o doente sentado na cadeira odontológica, foi-lhe pedido que realizasse um bochecho com água sem qualquer adição de antissépticos. Removeu-se superficialmente a placa supragengival da zona adjacente aos implantes utilizando compressas esterilizadas e seguidamente, fez-se a avaliação dos tecidos com recurso a uma sonda periodontal. Por fim, foi realizada a recolha de amostras em duas zonas (Figura 14): no rebordo gengival, na mucosa abrangida pela prótese por intermédio de uma zaragatoa de algodão estéril, e nos sulcos perimplantares de maior profundidade dos implantes através da introdução de cones de papel estéreis de tamanho 50, e que foram posteriormente armazenados em tubos *eppendorfs* estéreis, como representado em esquema (Gráfico 7). As amostras recolhidas foram identificadas através de um número que correspondia ao que foi atribuído na ficha de recolha de dados clínicos, estas amostras não sofreram qualquer tipo específico de armazenagem ou acondicionamento, nem foram colocadas em qualquer meio de transporte específico.

Todas as amostras, foram enviadas para o Laboratório de Microbiologia do ISCSEM, tendo sido processadas sempre em períodos inferiores a 24h após a recolha.



**Figura 14** - Recolha de amostras do sulco (A) e do rebordo (B)  
(Fotos cedidas por Mestre José Reis)



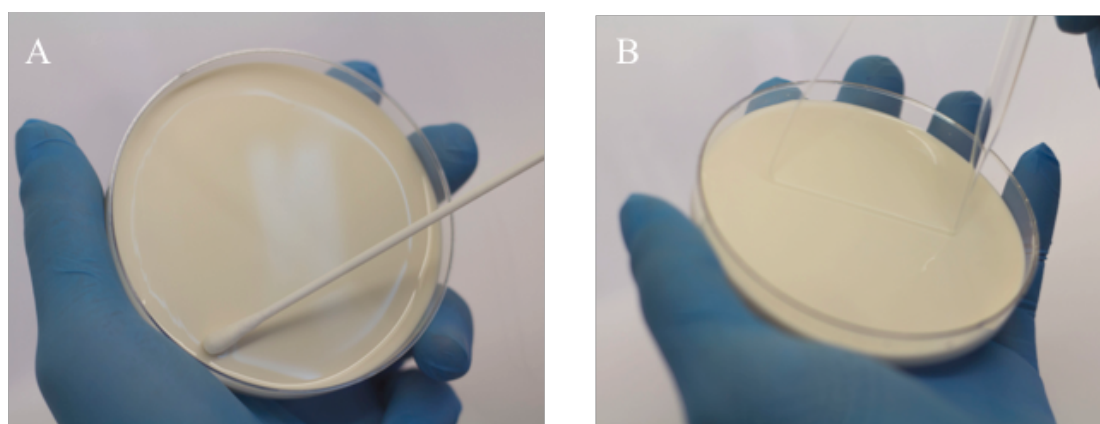
**Gráfico 7** – Esquemática do processo de recolha das amostras

#### 4 – ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

##### 4.1 – Isolamento primário

O isolamento primário foi feito em meio de cultura seletivo Brilliance™ *Candida* agar (BCA) (Oxoid™, UK) contendo agentes cromogénicos e 500 mg/ml de cloranfenicol.

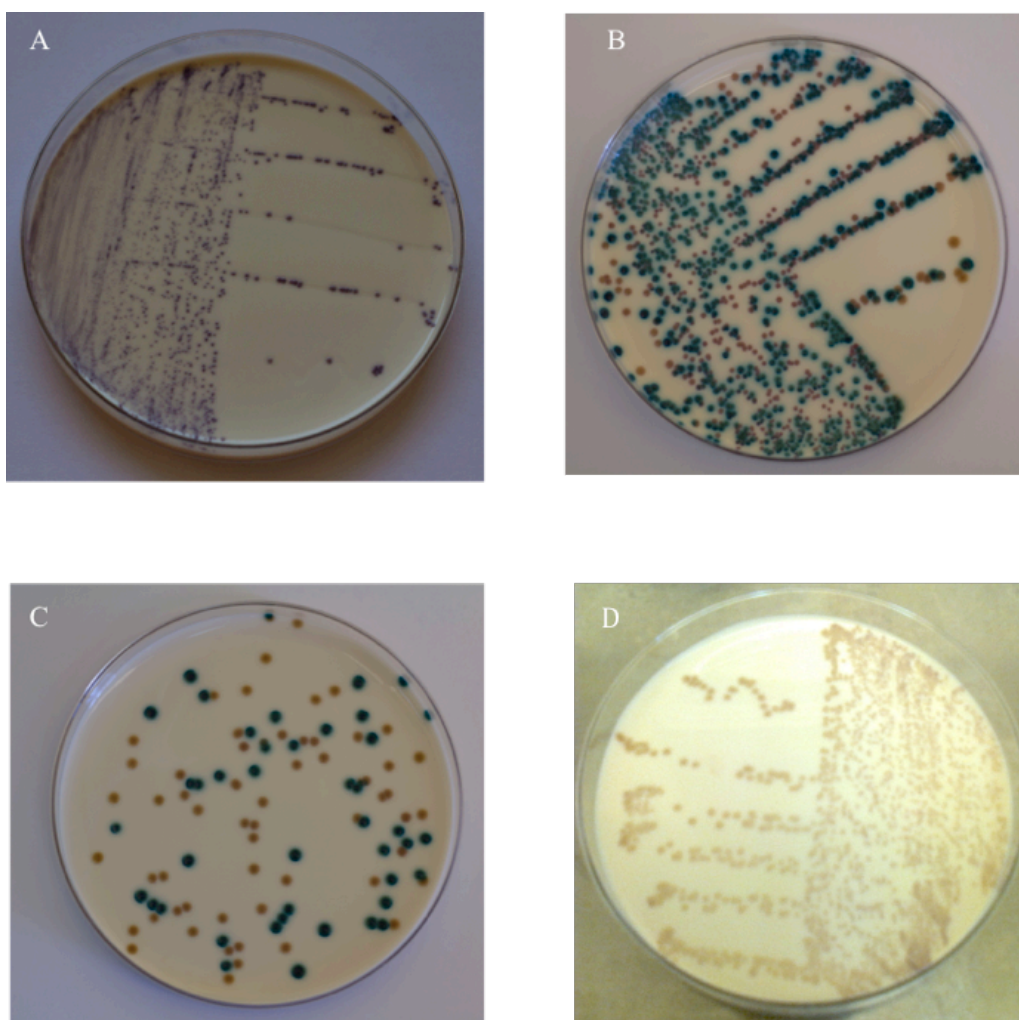
As amostras em zaragatoa foram processadas diretamente pelo método riscado (Figura 15A), em placas de BCA. As amostras contidas nos cones de papel foram inicialmente suspensas em 400 µl de água destilada estéril, agitadas por 30 segundos em vortex (VM-3000 da VWR, USA) e por fim, 200 µl da suspensão foi plaqueada pelo método de espalhamento (Figura 15B). As placas foram incubadas em estufa (Memmert, Alemanha) durante 48h a 30°C.



**Figura 15** - Processamento das amostras pelo método riscado (A) e pelo método de espalhamento (B)

#### 4.2 – Identificação das espécies de *Candida* pelo fenótipo em meio Brilliance™ *Candida*

Após incubação, as colónias foram identificadas tendo por base o padrão de cor apresentado (Figura 16). A identificação das espécies foi feita segundo as indicações do fabricante, sendo verde para a *C. albicans* ou *C. dubliniensis*, azul para a *C. tropicalis*, rosa pálido com morfologia seca e bordos irregulares para *C. krusei* e bege/castanho para *C. glabrata*, *C. kefyr*, *C. parapsilosis* e *C. lusitaniae*. Os isolados foram obtidos em culturas puras por repicagem de duas colónias representativas de cada espécie em meio de cultura Sabouraud Dextrose Agar (SDA) (Biomerieux, France) novamente deixadas a crescer em estufa durante 48h a 30°C.



**Figura 16** - Identificação fenotípica em meio cromogénico Brilliance™ *Candida*

**A** – *C. tropicalis* (azul); **B** – *C. albicans* (verde), *C. glabrata* (bege) e *C. krusei* (rosa); **C** – *C. albicans* (verde) e *C. glabrata* (bege); **D** – *C. glabrata* (bege)

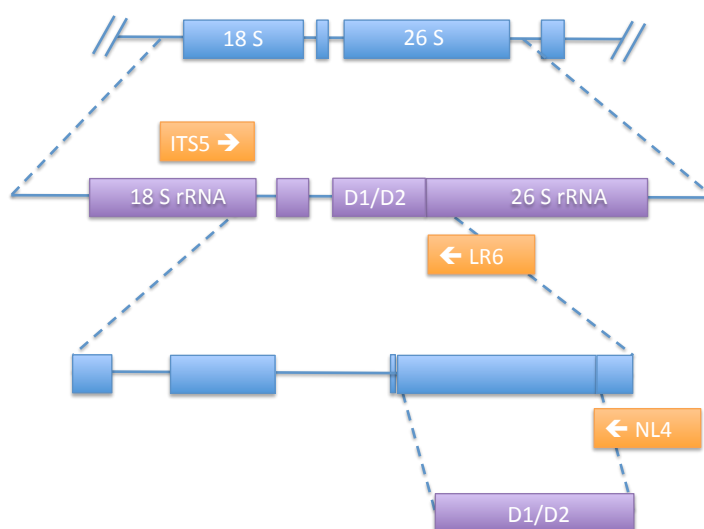
### 4.3 – Identificação genotípica das espécies de *Candida* por sequenciação do Domínio D1/D2 do ADN ribossomal 26S

#### 4.3.1- Extracção de ADN genómico

De cada uma das culturas puras obtidas nas placas de SDA foram retiradas duas ansas de biomassa, ressuspensos em 500 µl de tampão de lise contendo aproximadamente 200 µl de esferas de vidro de diâmetro 425-600 µm. Posteriormente, as amostras foram agitadas no vortex à velocidade máxima (2400 rpm) durante 3 minutos, colocadas em banho seco (Accublock, Labnet, EUA) durante 1h a 65°C, e novamente no vortex à velocidade máxima, durante 1 minuto. De seguida, foram centrifugadas a 13000 rpm (Centrifuge S418, Eppendorf, Alemanha), durante 10 minutos, à temperatura ambiente. O ADN foi precipitado por adição de 50 µl de acetato de sódio 3M pH 4.8 e 2 volumes de etanol absoluto a -20°C e incubação a -20°C durante 24 horas. Após centrifugação, a 13000 rpm foi lavado com 800 µl de etanol a 70% (v/v). E finalmente ressuspensionado em 50 µl solução de Tris EDTA (TE) 10 mM e conservado a -20°C. A solução obtida foi diluída em TE 1:10 para a reação de amplificação.

#### 4.3.2 - Reação de amplificação por reação em cadeia da polimerase (PCR)

A reação de amplificação por PCR foi realizada de acordo com o descrito por Cavaleiro (2012), com os *primers* ITS5 (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3') e LR6 (5'-CGCCAGTTCTGCTTACC-3') (Gráfico 8).



**Gráfico 8** – Esquema da sequência de genes na região D1/D2 e *primers* usados para a sua sequenciação.

A composição da mistura utilizada na reação encontra-se descrita na (Tabela 2), e as características de cada etapa da reação na (Tabela 3).

<b>Solução Stock</b>	<b>Volume (µl)</b>	<b>Concentração final</b>
ADN	2	-
Tampão PCR (10X)	5	1X
MgCl <sub>2</sub> (25 mM)	4	2 mM
dNTPs (1.25 mM)	8	0,2 mM
Primer ITS5 (10 uM)	2	0,4 mM
Primer LR6 (10 uM)	2	0,4 mM
Taq (5U/ul)	0,4	1U
Água	26,6	-

**Tabela 2** – Mistura de PCR

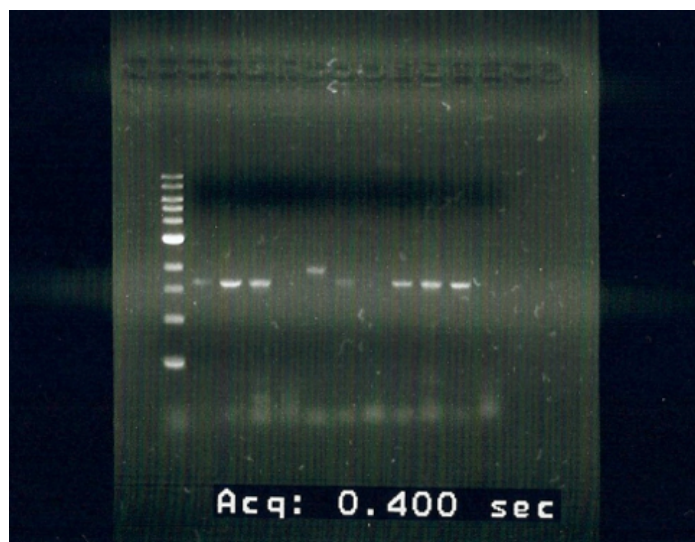
<b>Etapas Reação</b>	<b>Tempo do ciclo (s)</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Número de ciclos</b>
Desnaturação	300	95	1x
Desnaturação	30	95	35x
Emparelhamento	60	50	
Elongação	60	72	
Finalização	420	72	1x
-	-	-20	

**Tabela 3** – Etapas da reação de amplificação pela técnica de PCR

#### *4.2.4 - Análise Electroforética*

Os produtos amplificados foram confirmados por electroforese em gel de agarose a 1% (p/v) em tampão 1X Tris-acetate-EDTA (TAE), por 45 min a 90V. No gel foi incluído um marcador de pesos moleculares de 1 kb ADN (Ladder da BioLabs, UK) e um corante de ácidos nucleicos, *red safe* 20 000X (iNtRON, Korea). Por fim, foi fotografado sob luz UV e analisado (Figura 17).





**Figura 17** – Perfil de bandas obtido por electroforese num gel de agarose

#### 4.2.5 - Purificação do ADN amplificado

O ADN obtido por reação de PCR foi purificado com recurso ao kit de purificação GFX da Illustra (USA) (Figura 18) segundo as instruções do fabricante.



**Figura 18** - Kit de Purificação GFX da Illustra (USA)

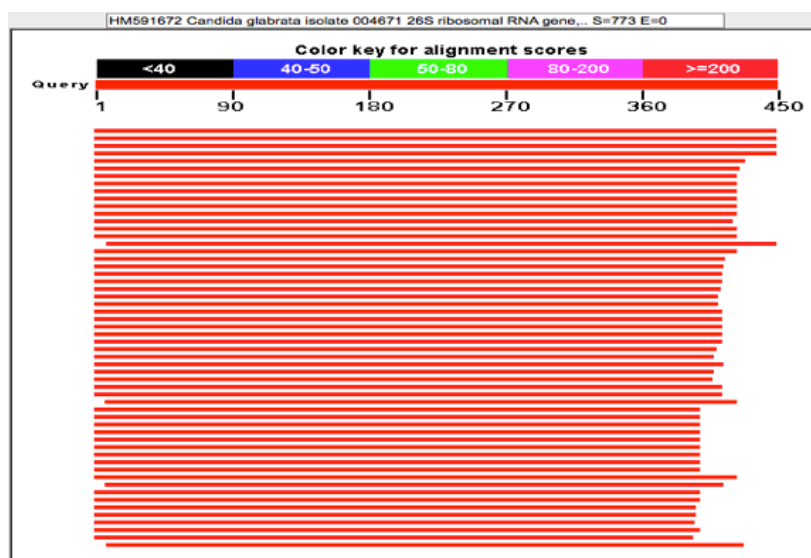
#### 4.2.6 – Quantificação e sequenciação do ADN

A fim de verificar se as amostras de ADN purificadas contêm ADN suficiente para proceder à sua sequenciação, foi realizada a sua quantificação num espectrofotómetro, Nanodrop ND-1000 da Thermo Scientific (USA) utilizando 2 µl da amostra. Posteriormente, os dados são obtidos pelo *software ND-1000 data viewer*

versão 3.5.2 da Thermo Scientific (USA). As amostras aptas foram enviadas para o laboratório STABVIDA para sequenciação.

#### *4.2.7 – Identificação genotípica das espécies de Candida*

A sequência obtida é alinhada e comparada com as sequências depositadas nas bases de dados da National Center for Biotechnology Information (NCBI) com recurso ao programa Blast<sup>®</sup> da *National Library of Medicine* (USA) (Figura 19).



**Figura 19** - Obtenção dos dados no programa Blast<sup>®</sup> com as diferentes associações encontradas e respetivo grau de aproximação da sequência de ADN (captura de imagem da aplicação)

## **5 – ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS OBTIDOS**

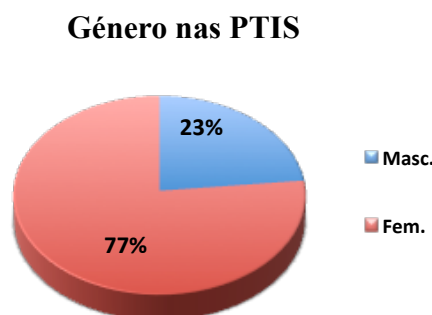
Para testar a associação entre as variáveis foi utilizado o teste do qui-quadrado, tendo sido definidos um nível de significância de 0,05 (5%) e um intervalo de confiança de 95%. A análise estatística, foi efetuado com o programa SPSS STATISTICS v22.0 (IBM, EUA) e o Excell 2011 (Microsoft, EUA) do ISCSEM.

### III - RESULTADOS

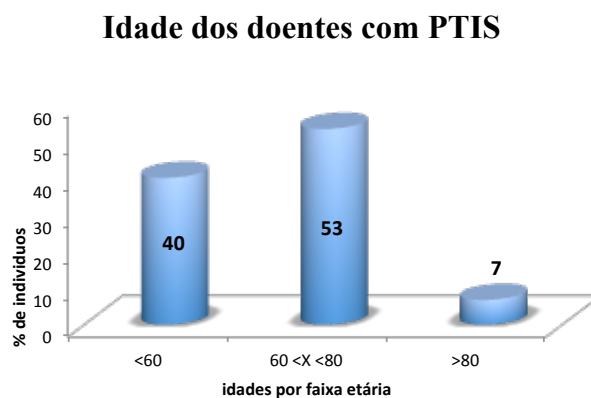
#### A. IDENTIFICAÇÃO E CARATERIZAÇÃO DO GRUPO DAS PTIS

##### 1 - Identificação do grupo das PTIS

O grupo das PTIS foi constituído por 30 doentes de ambos os géneros, feminino (77%) e masculino (23%) (Gráfico 9), com idades entre os 41 e os 82 anos, sendo a idade média  $63.7 \pm 11$  (Gráfico 10).



**Gráfico 9** – Distribuição da amostra quanto ao género nas PTIS

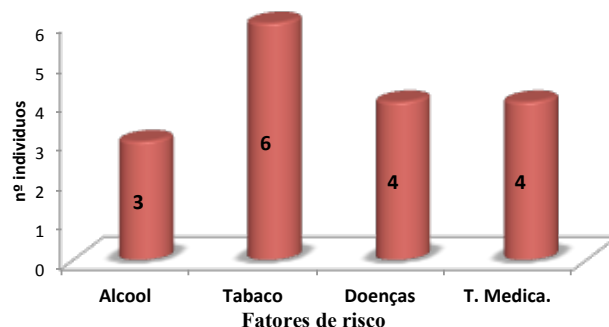


**Gráfico 10** – Distribuição da amostra por faixa etária nas PTIS

##### 2 - Caraterização da amostra quanto à existência de fatores de risco

Recorrendo aos fatores de risco envolvidos no desenvolvimento de mucosite protética e candidíase oral utilizados por Carvalho (2010) nomeadamente, consumo de álcool, tabaco, doenças e terapêutica medicamentosa, identifica-se, na amostra estudada, a seguinte distribuição (Gráfico 11):

### Fatores de risco



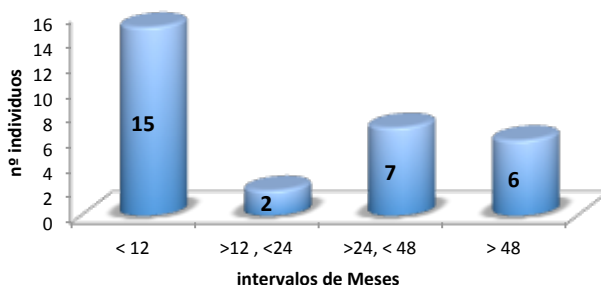
**Gráfico 11** – Distribuição do número de indivíduos com fatores de risco nas PTIS

De entre os fatores de risco avaliados, o mais frequente foi o consumo de tabaco com 20%, seguido das doenças, nomeadamente mucosite protética grau I com 13%, a terapêutica medicamentosa, corticoides e antidepressivos com 13% e finalmente o consumo regular de álcool com 10%. Os doentes com pelo menos um fator de risco representam 37% do total de população PTIS e só foram encontrados 10% dos doentes com 2 ou 3 fatores de risco associados.

### 3 - Caracterização da amostra quanto ao tempo de utilização da prótese

No que respeita ao tempo de utilização da prótese (Gráfico 12), os resultados variaram entre 3 meses e os 110 meses ( $\approx 9$  anos). Dividiu-se o tempo de utilização da prótese por grupos. O grupo com maior número de doentes (15), situou-se no intervalo de tempo inferior a 12 meses.

### Tempo de utilização da prótese

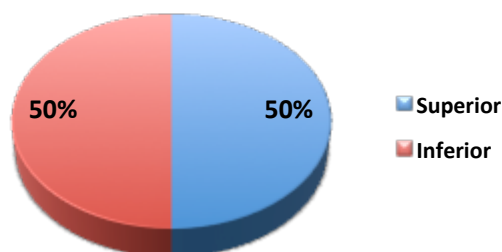


**Gráfico 12** – Distribuição da amostra quanto ao tempo de utilização da prótese nas PTIS

#### 4 - Caraterização da amostra por arcada reabilitada

Quanto à arcada reabilitada (Gráfico 13), tivemos uma distribuição equitativa.

**Distribuição da amostra por arcada reabilitada**

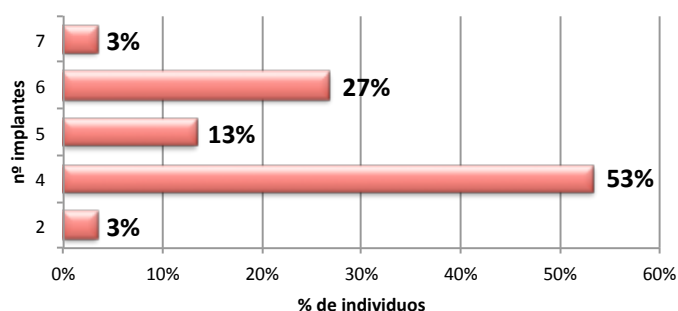


**Gráfico 13** – Distribuição da amostra por arcada reabilitada nas PTIS

#### 5 - Caraterização da amostra quanto ao número de implantes usados como pilares

No que respeita ao número de implantes utilizados como pilares da prótese (Gráfico 14), os números variaram entre 2 e 7 implantes, sendo o mais frequente a utilização de 4 implantes em carga. O segundo grupo mais frequente foi o grupo de 6 implantes, sendo o menos frequente o de 2 e 7 implantes com igual percentagem, o que corresponde a 1 doente. Quanto à sua distribuição por arcada, na superior 60% foi reabilitado com mais de 4 implantes e na inferior 73% foi reabilitado com 4 implantes.

**Número de implantes em carga**

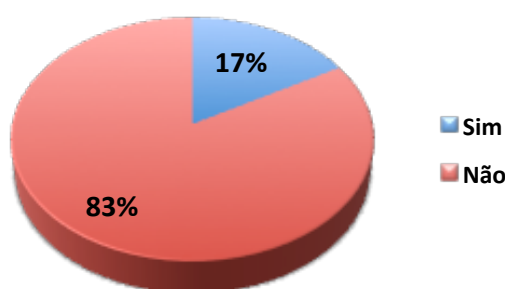


**Gráfico 14** – Distribuição da amostra por número de implantes em carga nas PTIS

## 6 - Caracterização da amostra quanto à presença de sinais inflamatórios associado aos implantes

Quanto à presença de sinais inflamatórios associados aos implantes no momento da recolha das amostras (Gráfico 15), nomeadamente supuração, sangramento, dor, bolsa aumentada, mobilidade, radiotransparência no raio-x (RX), apenas 17% dos doentes apresentavam um destes sinais, especificamente o sangramento à sondagem.

### Presença de sinais inflamatórios



**Gráfico 15** – Distribuição da amostra quanto à presença de sinais inflamatórios associados aos implantes nas PTIS

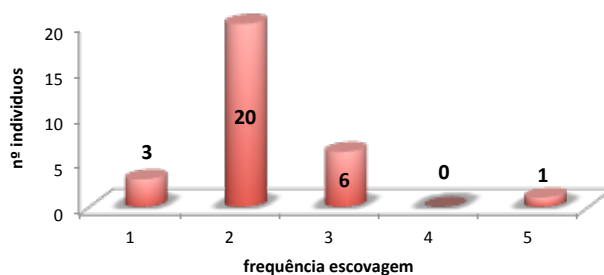
## 7 - Caracterização da amostra quanto à higiene oral

Os métodos de higiene oral usados pelos indivíduos participantes estão caracterizados na Tabela 4. Destaca-se que todos os indivíduos (100%) recorrem à escovagem como método de higiene oral sendo que duas, foi o número de escovagens diárias mais frequente (67%) (Gráfico 16). Em relação ao número de métodos utilizados (Gráfico 17), 64% dos doentes revelam recorrer a 2 métodos, seguido de 23% com 1 método, 10% com 3 métodos de higiene oral e 3% com 4 métodos.

Higiene	Doentes	%
Escovagem	30	100
Fio Dentário	1	3
Escovilhão	3	10
Jato Água	12	40
Elixir	10	33
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	2	7

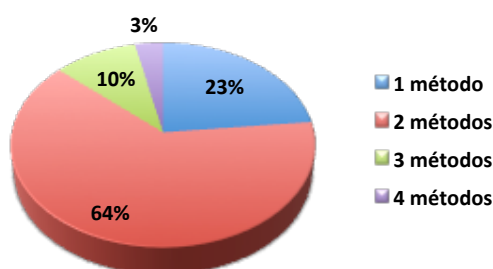
**Tabela 4** - Distribuição dos métodos de escovagem quanto ao número de doentes que os utilizam

### Frequência de escovagem diária



**Gráfico 16** – Distribuição da frequência de escovagem diária nas PTIS

### Distribuição da quantidade de métodos de higiene oral utilizados



**Gráfico 17** – Distribuição da quantidade métodos de higiene oral utilizados nas PTIS

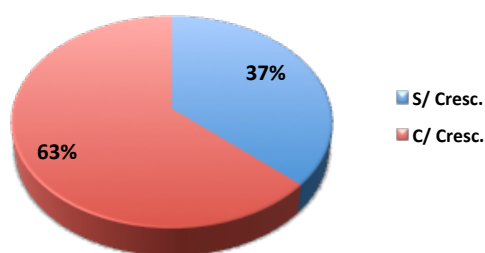
## 8 - Identificação e caracterização da microflora das PTIS

Foram realizadas duas colheitas a cada um dos doentes participantes no estudo, uma no rebordo adjacente à prótese e outra nos sulcos que aparentavam maior profundidade de cada implante. Cada uma das amostras foi colocada em meio de cultura e posteriormente identificadas e quantificadas. No total foram recolhidas 60 amostras, 30 das quais provenientes do sulco e as outras 30 provenientes do rebordo.

### 8.1 - Caracterização da amostra quanto a presença de fungos

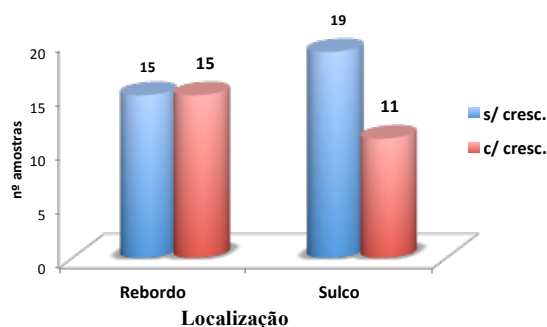
Do total de amostras recolhidas (Gráfico 18), verificou-se que 63% eram positivas para a presença de fungos. Das amostras que apresentaram crescimento, 15 eram provenientes do rebordo e 11 eram provenientes do sulco (Gráfico 19).

### Crescimento de Fungos



**Gráfico 18** – Distribuição da amostra quanto à presença de fungos nas PTIS

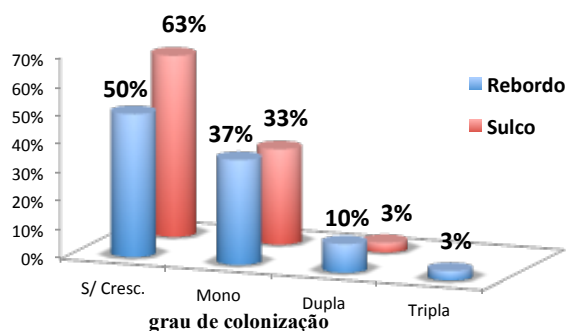
### Crescimento de fungos consoante a localização



**Gráfico 19** – Distribuição da amostra quanto ao crescimento de fungos consoante a localização da recolha nas PTIS

Quanto ao grau de colonização no rebordo (Gráfico 20), em 37% das amostras foi isolada apenas uma espécie, em 10% foram isoladas duas espécies e em apenas 3% foram isoladas três espécies de *Candida*. Por seu lado, no sulco, 33% das amostras apresentavam colonização por uma espécie e 3 % colonização por duas espécies. Pela associação entre o local da colheita e a colonização, verificou-se que as variáveis não estão relacionadas entre si (são independentes)  $p > 0,05$ .

### Grau de colonização



**Gráfico 20** – Distribuição da amostra quanto ao grau de colonização entre o rebordo e o sulco nas PTIS



### 8.2 - Particularidades das amostras provenientes do rebordo

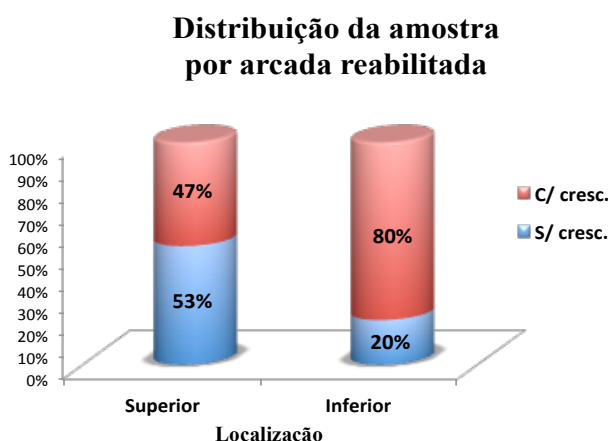
Do total de 19 doentes portadores de PTIS com colonização fúngica, salientam-se 15 doentes com colonização no rebordo. Destes, 8 apresentam colonização exclusivamente no rebordo, sendo 75% associado à arcada inferior e 7 apresentam colonização do rebordo e do sulco, pertencente 57% à arcada superior. Quanto ao aparecimento de fungos na arcada superior: 50% era colonizado por uma espécie; 34% por dupla colonização e 16% com tripla colonização, por outro lado a arcada inferior apresenta: 89% com colonização por uma espécie e 11% com colonização dupla.

### 8.3 - Particularidades das amostras provenientes do sulco

Do total de 19 doentes portadores de PTIS com colonização fúngica, salientam-se 11 doentes com colonização no sulco, 4 com colonização exclusiva (75% da arcada inferior) e 7 com colonização no rebordo e no sulco (57% da arcada superior). Quanto ao aparecimento de fungos na arcada superior: 80% eram colonizados por uma espécie; 20% por dupla colonização, por outro lado na arcada inferior todos os sulcos eram colonizados por apenas 1 espécie.

### 8.4 - Caracterização da amostra quanto à colonização por arcada reabilitada

Em relação ao tipo de prótese, 47% das amostras provenientes de próteses superiores e 80% das amostras provenientes de próteses inferiores revelaram crescimento de *Candida* (Gráfico 21). Através da associação entre a localização da prótese e a colonização, verificou-se que as variáveis não estão relacionadas entre si (são independentes),  $p > 0,05$ . Apesar de existir uma grande diferença de crescimento entre ambas as localizações, esta não foi estatisticamente significativa.

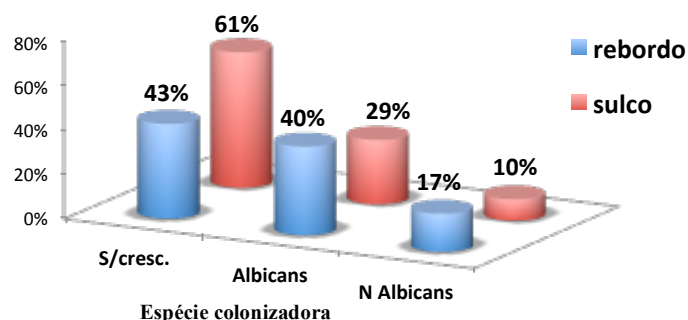


**Gráfico 21** – Distribuição da colonização por *Candida* por arcada reabilitada

### 8.5 - Caraterização da amostra quanto às espécies consoante a sua localização

Das amostras provenientes do rebordo (Gráfico 22), 43% não revelou colonização fúngica, 40% revelou colonização por *C. albicans* e apenas 17% evidenciou colonização por *C. não-albicans*. No entanto, as amostras provenientes do sulco apresentaram-se menos colonizadas, com 61% das amostras sem colonização fúngica, face aos 29% de amostras com *C. albicans* e 10% de *C. não-albicans*.

#### Espécie colonizadora por local colheita



**Gráfico 22** – Distribuição da amostra quanto à espécie colonizadora no rebordo e no sulco

### 8.6 - Caraterização das espécies identificadas

Das espécies isoladas, 72% apresentaram-se em meio BCA como *C. albicans*, 16% como *C. glabrata*, 6% como *C. krusei* com morfologia seca e bordos irregulares, 3% como *C. tropicallis* e 3% como *C. kefyr/C. parapsilosis/C. lusitaniae*\* (Tabela 5). Considerando as indicações do fabricante, podemos inferir que 72% das espécies são *C. albicans* e 28% são *C. não-albicans*.

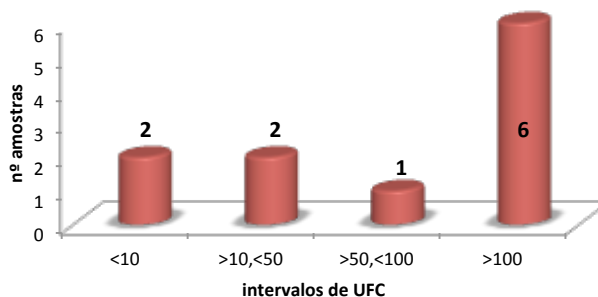
Espécies	N	%
<i>C. albicans</i>	23	72
<i>C. tropicallis</i>	1	3
<i>C. krusei</i>	2	6
<i>C. parapsilosis</i> *	1	3
<i>C. glabrata</i>	5	16

**Tabela 5** – Distribuição da amostra quanto às espécies identificadas nas PTIS

### 8.7 - Caraterização da amostra quanto ao número de unidades formadoras de colónias (UFC) no sulco

No Sulco, 6 amostras obtiveram mais de 100 UFC na placa, 2 amostras obtiveram entre 10 e 50 UFC, 2 amostras menos de 10 UFC e 1 amostra entre 50 e 100 UFC (Gráfico 23).

#### Contagem UFCs no sulco

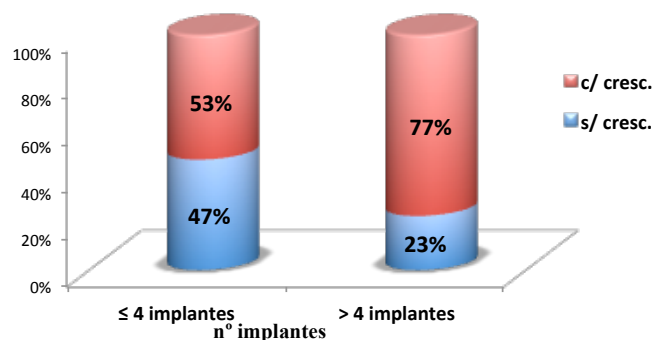


**Gráfico 23** – Distribuição da amostra quanto às UFCs no sulco

### 8.8 - Caraterização da colonização face ao número de implantes colocados

Em doentes portadores de reabilitações até 4 implantes, verificou-se colonização em 53% das amostras, por outro lado os doentes portadores de reabilitações com mais de 4 implantes apresentaram crescimento em 77% das amostras recolhidas (Gráfico 24). Através da associação entre o número de implantes e o crescimento fúngico, verificou-se que as variáveis não estão relacionadas entre si ( $p>0,05$ ).

#### Crescimento de fungos por número de implantes



**Gráfico 24** – Distribuição da amostra quanto ao crescimento de fungos face ao número de implantes

## B. COMPARAÇÃO DO GRUPO DAS PTIS COM O GRUPO DAS PTMS

### 1 - Caraterização dos grupos comparados

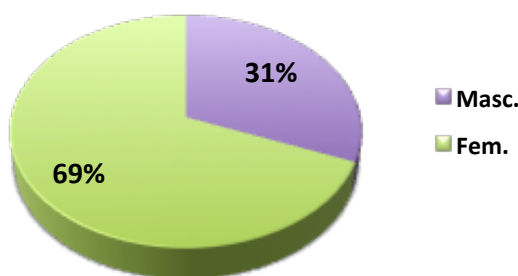
Quando pretendemos fazer esta comparação de resultados a nossa amostra passa a ter a seguinte caracterização, de um total de 90 doentes, 33% eram portadores de prótese total implantosuportada (PTIS) e 67% eram portadores de prótese total mucosuportada (PTMS), sendo os dados deste último grupo provenientes da amostra avaliada por Carvalho (2011).

O grupo em estudo foi constituído por doentes de ambos os géneros, feminino (69%) e masculino (31%) (Gráfico 25), com idades entre os 41 e os 91 anos, sendo a idade média  $64,8 \pm 11$ .

O grupo das PTIS foi constituído por 30 doentes de ambos os géneros, feminino (77%) e masculino (23%) (Gráfico 26), com idades entre os 41 e os 82 anos, sendo a idade média  $63,7 \pm 11$  (Gráfico 27).

O grupo das PTMS foi constituído por 60 doentes de ambos os géneros, feminino (65%) e masculino (35%) (Gráfico 26), com idades entre os 42 e 91 anos, cuja idade média é de  $65,3 \pm 11$  (Gráfico 27).

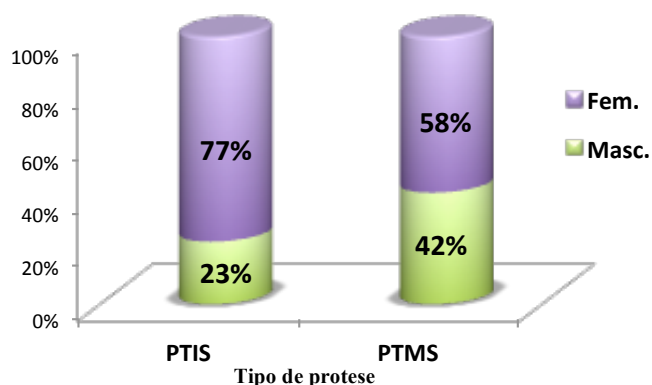
### Género do grupo de estudo



**Gráfico 25** – Distribuição da amostra por género no grupo de estudo

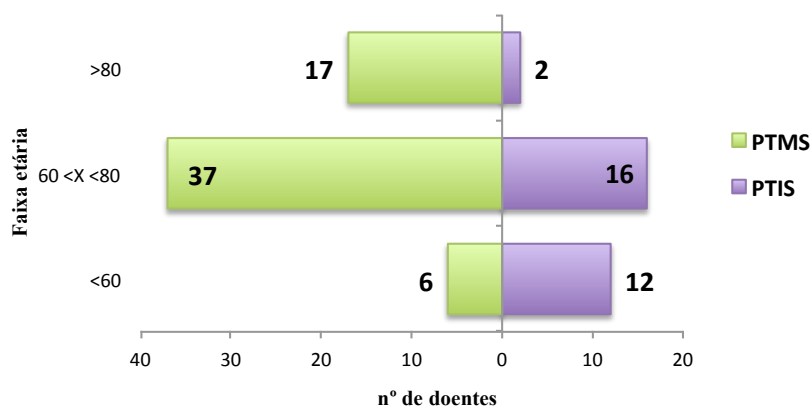
Os resultados obtidos no que respeita à microflora encontrada nas PTIS foram comparados com os resultados obtidos em PTMS, no sentido de se verificar a existência de associação entre o crescimento de microrganismos e espécies identificadas.

### Género por tipo de prótese



**Gráfico 26** – Distribuição da amostra quanto ao género nas PTIS e PTMS

### Idade dos doentes

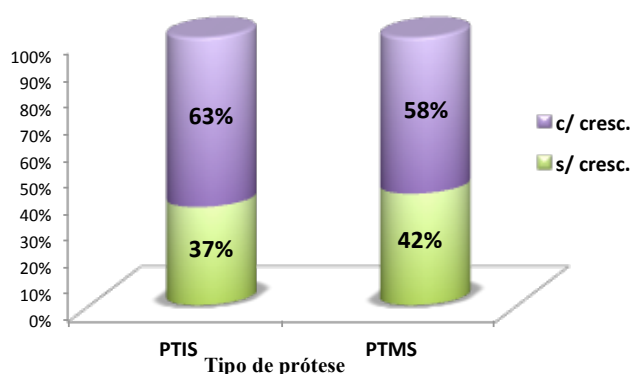


**Gráfico 27**– Distribuição da amostra por faixa etária nas PTIS e PTMS

## 2 - Comparação da colonização entre os dois tipos de prótese

Tal como se verificou para os doentes portadores de PTIS (63%), a maioria dos portadores de PTMS apresentavam-se colonizados por espécies de *Candida* (58%). A diferença encontrada não indica nenhuma associação entre a colonização e o tipo de prótese ( $p > 0,05$ ) (Gráfico 28).

### Comparação do crescimento de fungos

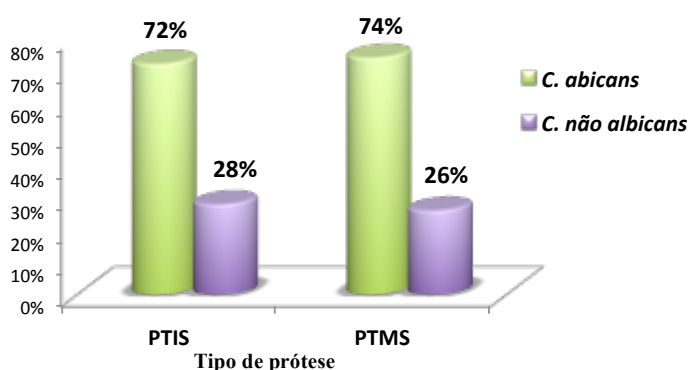


**Gráfico 28** – Comparação do crescimento de fungos entre a PTIS e a PTMS

### 3 - Comparação da distribuição da amostra quanto às espécies identificadas entre as próteses

Em termos das espécies identificadas nas diferentes amostras (Gráfico 29), tanto as PTIS como as PTMS obtiveram números elevados de *C. albicans* com 72% e 74% respectivamente. No que respeita às espécies não-*albicans*, foram identificadas 28% nas amostras das PTIS e 26% nas amostras das PTMS. Estes resultados não indicam associação entre o tipo de prótese e a espécie presente,  $p > 0,05$ .

### Comparação das espécies de *Candida*



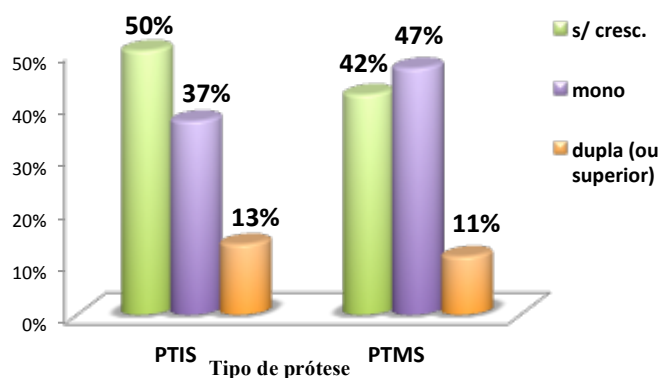
**Gráfico 29** – Comparação de espécies de *Candida* entre a PTIS e a PTMS

No que respeita às amostras provenientes das PTIS quanto às espécies não-*albicans* 5 amostras eram *C. glabrata*, 1 amostra era *C. krusei*, 1 amostra *C. tropicalis* e finalmente 1 amostra *C. parapsilosis*. Quanto às amostras provenientes da PTMS 5 amostras eram *C. glabrata*, 5 amostras *C. tropicalis* e finalmente 1 amostra era *C. krusei*.

#### 4 - Comparação do grau de colonização entre as amostras provenientes do rebordo das próteses

No que respeita à distribuição da amostra quanto ao grau de colonização (Gráfico 30) ambos os grupos tiveram na sua maioria colonizações simples com 37% nas PTIS e 47% PTMS, seguido de 10% e 12% respectivamente para amostras com colonização dupla (ou superior). Apenas as amostras das PTIS apresentaram colonização tripla com 3% do total de amostras. Mediante a associação entre o tipo de prótese e o grau de colonização no rebordo, verificou-se que as variáveis são independentes.

#### Comparação do grau de colonização



**Gráfico 30** – Comparação do grau de colonização entre a PTIS e a PTMS

#### **IV - DISCUSSÃO**

O presente estudo teve como principal objectivo comparar e caraterizar a microflora fúngica da PTMS e da PTIS e analisar de que modo o crescimento de fungos, o grau de colonização e a existência de *C. albicans* e *C. não-albicans* variam entre elas.

As leveduras em geral têm um elevado potencial de adesão aos biomateriais de utilização na cavidade oral (Bürgers *et al.*, 2012), disso são exemplo os vários estudos que referem uma estreita relação destas aos acrílicos constituintes das próteses dentárias (Al-Dwairi *et al.*, 2012), esta caraterística está presente também em materiais tais como o titânio dos implantes (Bürgers *et al.*, 2010). Elas coexistem com bactérias comensais e patogénicas, o que lhes confere ainda uma maior capacidade de colonização (Sardi, Almeida & Gianinni, 2011). Esta capacidade de colonização ganha contornos ainda mais curiosos, pois no caso da *C. albicans* esta pode servir como uma ponte entre a mucosa e as bactérias que normalmente não aderem aos tecidos orais. No entanto ao permitir que as bactérias se fixem às leveduras de forma organizada acabam por conseguirem estabelecer adesão a estes tecidos (Krom, 2014). Não só as *C. albicans* aderem aos materiais acrílicos, as espécies de *C. não-albicans*, como é exemplo a *C. glabrata*, são frequentemente isoladas nas superfícies acrílicas das próteses (Pereira-Cenci *et al.*, 2008).

A virulência das espécies de *Candida*, dá-se quando passam da fase levedura para a fase hifa, no entanto, a diversidade e quantidade de bactérias existentes na cavidade oral têm um papel regulador sobre os fatores de virulência impedindo a sua conversão, contribuindo desta forma para a integridade do epitélio e permitindo a modulação da resposta imunitária do doente (Oever & Netea, 2014).

Quando estamos a falar da adesão ao titânio a relação deste com as leveduras não está bem definida e apesar de existirem diversos estudos publicados que caraterizam a microflora bacteriana perimplantar, poucos referem o aparecimento de fungos. Contudo, estão publicados diversos estudos micológicos que foram realizados em doentes portadores de perimplantite ou com historial de periodontite, no entanto apenas um estudo com implantes dentários saudáveis referiu a presença de leveduras (Soares, 2009). Não se encontram referenciados estudos que caraterizem a microflora em doentes portadores de PTIS, reconhecendo-se a importância da sua realização, de forma a poder-se verificar quais as semelhanças com as já muito estudadas PTMS, a fim



de estabelecer estratégias de controlo de infecção fúngica e ajuste de protocolos de higienização.

A metodologia de recolha e cultura utilizada para a identificação de microrganismos provenientes do sulco perimplantar e rebordo alveolar, foi idêntica à utilizada noutros estudos com outros grupos populacionais e em outras áreas geográficas (Alcoforado *et al.*, 1991; Rosenberg, Torosian & Slots, 1991; Leonhardt, Renvert & Dahlén, 1999; Leonhardt, Bergstrom & Lekholm, 2003; Shibli, Martins, Lotufo & Marcantonio, 2003; Albertini *et al.*, 2014), aliás a mesma metodologia foi aplicada em indivíduos da mesma área geográfica (Soares, 2009, Carvalho, 2010). A utilização do meio *brilliance*<sup>TM</sup> *Candida* agar (BCA) (Oxoid<sup>TM</sup>, UK) revelou resultados igualmente satisfatórios em relação ao meio CHROMagar *Candida* (França) utilizado por Soares (2009), Cavaleiro (2009) e Carvalho (2010), constatado no estudo de Alfonso (2010). No que respeita à metodologia usada para identificação genotípica das espécies de *Candida* por sequenciação do domínio D1/D2 do ADN ribossomal 26S esta foi adaptada do protocolo executado por Cavaleiro *et al.* (2012) tendo sido possível identificar apenas uma espécie de *C. não-albicans*, nomeadamente *C. glabrata*, que representa 55% das amostras pertencentes a *C. não-albicans* no grupo das PTIS.

Neste estudo analisámos 30 doentes portadores de PTIS e os resultados obtidos foram comparados com um grupo de 60 doentes portadores de PTMS realizado por Carvalho (2010). Quando caracterizamos o grupo de doentes que participaram no estudo, são quanto ao género e idade semelhantes a estudos realizados por Leonhardt *et al.* (1999) com 70% mulheres e 30% homens, com uma idade média de  $63.7 \pm 7$  e por Soares (2009), com 62,5% de mulheres e 37,5% de homens e idades compreendidas entre os 19 aos 66 anos, cuja a idade media é de 50,2. Da mesma forma no estudo de Albertini *et al.* (2014) 67% eram mulheres e 33% homens com idades compreendidas entre 32 e 90 anos. No nosso estudo 77% eram mulheres e 23% eram homens com idades compreendidas entre 41 e os 82 anos, sendo a idade média  $63.7 \pm 11$ .

Tanto o grupo das PTIS com 53% como o grupo das PTMS com 62% apresentam uma maior prevalência de indivíduos na faixa etária dos 60 aos 80 anos, esta faixa etária mais avançada pode ser um factor de risco para uma colonização por microrganismos, aliás isto é referido por exemplo por autores como Radford *et al.* (1999), pelo que neste estudo tanto o grupo das PTIS como nas PTMS são constituídos por indivíduos com idades aproximadas no sentido de se tornarem comparáveis. Os grupos de faixas etárias com mais de 60 anos são mais susceptíveis a infecções promovidas pelas alterações

imunológicas, pelo aparecimento de doenças sistémicas, pela necessidade de tomarem fármacos e em alguns casos por presença de défice nutricional (Carvalho, 2010). Estas alterações, em conjunto com o consumo de tabaco e álcool, segundo Belibasakis (2014) constituem fatores de risco, criando um desequilíbrio entre a resposta imunológica do hospedeiro e a virulência das espécies colonizadoras, levando ao enfraquecimento das barreiras locais e da resposta sistémica (Carvalho, 2010). No caso específico do grupo das PTIS, cerca de 37% dos doentes eram afectados por pelo menos um dos seguintes fatores: tabaco (20%) e álcool (10%) doenças (mucosite) (13%) e terapêutica medicamentosa (13%). Contudo, os doentes que apresentavam mais fatores de risco não foram neste estudo os que apresentavam mais colonização por *Candida* e mais especificamente por *C. não-albicans*.

No que respeita às características do grupo das PTIS, verificou-se que 50% destes doentes utilizavam prótese há menos de 1 ano, 23% entre 2 a 4 anos de utilização, 20% com mais de 4 anos e finalmente 7% entre 1 a 2 anos. A rápida colonização após a colocação dos implantes em desdentados totais, descrita por Mombelli (1993) foi também verificada neste estudo com 67% de colonização no grupo com menos de um ano, aliás pode-se considerar que durante este período de tempo ainda estejamos perante tanto um período de adaptação dos tecidos à nova condição - colocação da nova prótese em função - como ao sinergismo entre os distintos microrganismos comensais (Belibasakis, 2014). Por outro lado, em termos da arcada reabilitada obtivemos uma distribuição equitativa entre PTIS superiores e inferiores, o que possibilitou uma maior homogeneidade da amostra. Quanto à distribuição do número de implantes usados como pilares, os 2 principais grupos foram os relativos aos sistemas de 4 e de 6 implantes, sendo que 56% da amostra tinha 4 implantes. A reabilitação de doentes com sistemas até 4 implantes revelou uma menor presença de fungos (53%) relativamente às reabilitações com mais de 4 implantes (77%). No entanto, esta diferença não é estatisticamente significativa ( $p=0,058$ ), o que nos permite afirmar, que neste estudo, o número de implantes não influenciou a presença de fungos na cavidade oral.

Apenas 17% dos doentes com PTIS apresentavam sinais inflamatórios associados aos implantes e apesar desta percentagem, todos são exemplo de sangramento à sondagem, podendo tal facto dever-se à fragilidade das mucosas e devido à dificuldade de higienização, não significando um risco de perda do implante. Esta baixa prevalência de inflamação é passível de ser associada à grande percentagem de doentes que recorrem a mais do que um dos métodos de higiene oral (64%), com uma escovagem

regular de 2 vezes ao dia (67%), bem como à ausência de doentes imunocomprometidos e à baixa percentagem de doentes com fatores de risco associados (37%). Esta importância dos métodos de higiene foi afirmada por Lindhe quando referiu que o recurso à escova dentária e a utilização de métodos complementares (jato de água, passa fio e escovilhão) revelaram uma melhoria da higiene oral em geral e a diminuição dos sinais de inflamação (Lindhe *et al.*, 2008).

No que respeita à colonização, o grupo das PTIS apresentou-se com 50% das amostras provenientes do rebordo e 37% provenientes do sulco. Após a associação entre o crescimento de fungos e o local da colheita constatámos que as variáveis são independentes ( $p>0,05$ ) e como tal este não condiciona o aparecimento de fungos na cavidade oral. Verificámos também que apesar de existirem casos de dupla e tripla colonização, em termos gerais, os doentes clinicamente saudáveis e reabilitados com PTIS apresentaram colonização simples. Apesar de neste estudo se verificar uma presença de fungos significativamente maior nas próteses inferiores, as variáveis são independentes ( $p>0,05$ ). Embora Leonhardt tenha identificado espécies de *Candida* exclusivamente em situações de perimplantite e implantes falhados, foi-nos possível isolar *Candida spp.* em doentes com implantes clinicamente saudáveis, verificando-se ainda o surgimento de espécies *C. não-albicans* potencialmente patogénicas com capacidade de colonização (*C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei* e *C. parapsilosis*) (Leonhardt *et al.*, 1999; Mombelli & Decaillet, 2011). A colonização por *C. albicans* foi verificada em outros estudos (Alcoforado *et al.*, 1991; Leonhardt *et al.*, 1999; Albertini *et al.*, 2014) bem como a presença de *C. tropicalis* por Soares (2009).

Ao efetuar uma análise mais pormenorizada aos doentes colonizados por *C. não-albicans*, na sua maioria estes apresentam tanto colonização no rebordo (83%), como no sulco perimplantar (83%). Esta colonização ocorreu preferencialmente em doentes reabilitados com sistemas de 6 implantes na maxila (67%) e ao procurar por hábitos nocivos observamos que nenhum deles era fumador ou consumia bebidas alcoólicas, que escovavam predominantemente a prótese 2 vezes ao dia (83%), isto apesar de estatisticamente não ser significativo pode-nos levar a pensar que o factor número de implantes influenciou mais a colonização. No entanto, não encontramos na literatura referências de existir uma associação direta entre os dados supra descritos e o desenvolvimento específico de espécies *C. não-albicans*. No que respeita às espécies encontradas, 50% foi colonizado por *C. glabrata*, 34% colonizado por *C. krusei*, 17% por *C. tropicalis* e 17% por *C. kefyr/C. parapsilosis/C. lusitaniae*.

A interação fungo/bactérias com a presença de saliva e a superfície colonizada foi até a data estudada superficialmente (Pereira-Cenci *et al.*, 2008). O sulco perimplantar pelo facto de não ser banhado por saliva e ter um menor aporte de oxigénio apresenta uma placa microbiana com estrutura e espécies bacterianas distintas do rebordo alveolar, com preferência para os Cocos Gram positivos (Lindhe *et al.*, 2008). Krom (2014) descreve diferentes interações químicas e metabólicas que fazem variar o número de *C. albicans* face às espécies de bactérias existentes no meio. No nosso estudo a prevalência de *Candida* no sulco foi inferior (37%) face à presença de *Candida* no rebordo (50%) que se justifica pela preferência deste fungo por meios aeróbios como descrito por Salerno *et al.* (2011) e pelo tipo de bactérias existentes referido por Krom (2014).

As diferenças na colonização entre os dois tipos de suporte protético (mucosa e implantes) foram avaliados com o teste de qui-quadrado. Em primeiro lugar, comparou-se a colonização por fungos, sendo esta de 63% para as PTIS e 58% para as PTMS, apresentando uma variação de 5%, não significativa ( $p>0,05$ ). Em segundo lugar e uma vez que as amostras provenientes das PTMS eram exclusivamente do rebordo, comparámo-las com as amostras das PTIS provenientes da mesma origem. Devido ao facto de não existir colonização tripla nas PTMS, agrupamos os dados em colonização simples e dupla ou superior e também neste caso não observámos diferenças significativas.

Foi igualmente avaliada a presença de espécies de *C. albicans* e *C. não-albicans*, revelando, como expectável, valores mais elevados para a colonização por *C. albicans* com 72% para as PTIS e 74% para as PTMS, face às 28% de amostras de *C. não-albicans* nas PTIS e 26% de amostras nas PTMS. Desta comparação constata-se que o tipo de suporte protético não parece ser um fator de risco para a colonização por estas leveduras.

Por último, comparando os valores de *Candida não-albicans* do nosso estudo em PTIS (28%) e do estudo de Carvalho (2010) em PTMS (26%) com o estudo de Cavaleiro (2012) em doentes saudáveis não portadores de prótese (8%), leva-nos a considerar que o uso de prótese pode levar a uma maior presença destas espécies.

## V – CONCLUSÃO

Tendo em consideração a metodologia utilizada e os resultados obtidos e analisados, podemos concluir que:

- As espécies detetadas em PTIS clinicamente saudáveis, são idênticas às encontradas em estudos anteriores sobre periimplantite, como é exemplo a *C. albicans* e a *C. tropicalis*.
- Pela primeira vez, foi reportada a presença de *C. glabrata*, *C. krusei* e *C. parapsilosis*, que não estão patentes nos estudos associados a implantes quer em condições saudáveis, quer patológicas.
- A localização das PTIS (superior/inferior) não está diretamente relacionada com o crescimento ou o tipo de fungos que se desenvolvem no sulco e no rebordo das mesmas.
- Os fatores de risco, a metodologia usada para a higiene oral e os sinais inflamatórios não estão diretamente relacionados com a colonização fúngica.
- O tipo de prótese não parece influenciar a colonização por fungos, o grau de colonização e a distribuição da amostra quanto às espécies identificadas.

## **VI – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Aas, J. a, Griffen, A. L., Dardis, S. R., Lee, A. M., Olsen, I., Dewhirst, F. E., ... Paster, B. J. (2008). Bacteria of dental caries in primary and permanent teeth in children and young adults. *Journal of Clinical Microbiology*, 46(4), 1407–17. doi:10.1128/JCM.01410-07
- Abi Nader, S., Eimar, H., Momani, M., Shang, K., Daniel, N. G., & Tamimi, F. (2014). Plaque Accumulation Beneath Maxillary All-on-4™ Implant-Supported Prostheses. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*, (C). doi:10.1111/cid.12199
- Al-Dwairi, Z. N., Al-Quran, F. a, & Al-Omari, O. Y. (2012). The effect of antifungal agents on surface properties of poly(methyl methacrylate) and its relation to adherence of *Candida albicans*. *Journal of Prosthodontic Research*, 56(4), 272–80. doi:10.1016/j.jpor.2012.02.006
- Albertini, M., López-Cerero, L., O’Sullivan, M. G., Chereguini, C. F., Ballesta, S., Ríos, V., ... Bullón, P. (2014). Assessment of periodontal and opportunistic flora in patients with peri-implantitis. *Clinical Oral Implants Research*, 0, 1–5. doi:10.1111/clr.12387
- Alcântara, P. R., Thomé, G., Melo, A. C. M., & Sartori, I. A. de M. (2008). Proliferação óssea em pacientes portadores de mandíbula edêntula com o uso de prótese total fixa sobre implantes Osseous proliferation of the mandible of patients rehabilitated with fixed prosthesis. *Rev. ABO Nac.*, 15(6), 375–378.
- Alcoforado, G. A., Rams, T. E., Feik, D., & Slots, J. (1991). Microbial aspects of failing osseointegrated dental implants in humans. *Journal de Parodontologie*, 10(1), 11–8.
- Alfonso, C., López, M., Arechavala, A., Perrone, M. D. C., Guelfand, L., & Bianchi, M. (2010). [Presumptive identification of *Candida* spp. and other clinically important yeasts: usefulness of Brilliance *Candida* Agar]. *Revista Iberoamericana de Micología*, 27(2), 90–3. doi:10.1016/j.riam.2010.01.008
- Algraftree, H., Borumandi, F., & Cascarini, L. (2012). Peri-implantitis. *The British Journal of Oral & Maxillofacial Surgery*, 50(8), 689–94. doi:10.1016/j.bjoms.2011.11.020
- Anusavice, K. j., Shen, C., & Rawls, H. R. (2013). *Phillips’ Science of Dental Materials* (12ª edição., pp. 92–110). St. Louis, Missouri, USA: Elsevier Ltd.
- Armas, J., Culshaw, S., & Savarrio, L. (2013). Treatment of Peri-implant Diseases : A Review of the Literature and Protocol Proposal. *Dental Update*, 40(August), 472–480.

- Belibasakis, G. N. (2014). Microbiological and immuno-pathological aspects of peri-implant diseases. *Archives of Oral Biology*, 59(1), 66–72. doi:10.1016/j.archoralbio.2013.09.013
- Bettencourt, A. F., Neves, C. B., de Almeida, M. S., Pinheiro, L. M., Oliveira, S. A. E., Lopes, L. P., & Castro, M. F. (2010). Biodegradation of acrylic based resins: A review. *Dental Materials: Official Publication of the Academy of Dental Materials*, 26(5), e171–80. doi:10.1016/j.dental.2010.01.006
- Bhat, V., Sharma, S. M., Shetty, V., Shastry, C. S., Rao, V., Shenoy, S. M., ... Balaji, S. (2013). Prevalence Of *Candida* Associated Denture Stomatitis ( Cads ) And Speciation Of *Candida* Among Complete Denture Wearers Of South West Coastal Region Of Karnataka. *NUJHS*, 3(3), 59–63.
- Bürgers, R., Hahnel, S., Reichert, T. E., Rosentritt, M., Behr, M., Gerlach, T., ... Gosau, M. (2010). Adhesion of *Candida albicans* to various dental implant surfaces and the influence of salivary pellicle proteins, *Acta Biomaterialia*, 6(6), 2307–13. doi:10.1016/j.actbio.2009.11.003
- Bürgers, R., Witecy, C., Hahnel, S., & Gosau, M. (2012). The effect of various topical peri-implantitis antiseptics on *Staphylococcus epidermidis*, *Candida albicans*, and *Streptococcus sanguinis*. *Archives of Oral Biology*, 57(7), 940–7. doi:10.1016/j.archoralbio.2012.01.015
- Carlsson, G. E., & Omar, R. (2010). The future of complete dentures in oral rehabilitation. A critical review. *Journal of Oral Rehabilitation*, 37(2), 143–56. doi:10.1111/j.1365-2842.2009.02039.x
- Carvalho, J. P. C. (2010) Estudo da alteração da microflora em doentes portadores de prótese muco-suportada após a introdução de um protocolo de higienização (Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Dentária) Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, Monte da Caparica, Portugal;
- Cavaleiro, I. I. B. (2009) Avaliação da distribuição de espécies de *Candida* associadas à cavidade oral de indivíduos portadores de próteses dentárias removíveis (Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Dentária) Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, Monte da Caparica, Portugal;
- Cavaleiro, I., Proença, L., Félix, S., & Salema-Oom, M. (2012). Prevalence of yeast other than *Candida albicans* in denture wearers. *Journal of Prosthodontics: Official Journal of the American College of Prosthodontists*, 22(5), 351–7. doi:10.1111/jopr.12005
- Charalampakis, G., Leonhardt, Å., Rabe, P., & Dahlén, G. (2012). Clinical and microbiological characteristics of peri-implantitis cases: a retrospective multicentre study. *Clinical Oral Implants Research*, 23(9), 1045–54. doi:10.1111/j.1600-0501.2011.02258.x

- Cho, T., Nagao, J.-I., Imayoshi, R., & Tanaka, Y. (2014). Importance of Diversity in the Oral Microbiota including *Candida* Species Revealed by High-Throughput Technologies. *International Journal of Dentistry*, 2014, 454391. doi:10.1155/2014/454391
- Cooper, L. F. (2009). The current and future treatment of edentulism. *Journal of Prosthodontics: Official Journal of the American College of Prosthodontists*, 18(2), 116–122. doi:10.1111/j.1532-849X.2009.00441.x
- Coronado-Castellote, L., & Jiménez-Soriano, Y. (2013). Clinical and microbiological diagnosis of oral candidiasis. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*, 5(5), e279–86. doi:10.4317/jced.51242
- Coulthwaite, L., & Verran, J. (2007). Potential pathogenic aspects of denture plaque. *British journal of biomedical science*, 64(4), 180–189.
- Critchlow, S. B., & Ellis, J. S. (2010). Prognostic indicators for conventional complete denture therapy: A review of the literature. *Journal of Dentistry*, 38(1), 2–9. doi:10.1016/j.jdent.2009.08.004
- De Araújo Nobre, M. A., & Malo, P. (2014). The influence of rehabilitation characteristics in the incidence of peri-implant pathology: a case-control study. *Journal of Prosthodontics: Official Journal of the American College of Prosthodontists*, 23(1), 21–30. doi:10.1111/jopr.12114
- De Freitas Fernandes, F. S., Pereira-Cenci, T., da Silva, W. J., Filho, A. P. R., Straioto, F. G., & Del Bel Cury, A. A. (2011). Efficacy of denture cleansers on *Candida* spp. biofilm formed on polyamide and polymethyl methacrylate resins. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 105(1), 51–8. doi:10.1016/S0022-3913(10)60192-8
- De Rossi, T., Lozovoy, M. A. B., Silva, V. Da, Fernandes, E. V., Geraldino, T. H., Costa, I. C., ... Felipe, I. (2011). Interações entre *Candida albicans* e hospedeiro. *Semina: Ciências Biológicas E Da Saúde*, 32(1), 15–28. doi:10.5433/1679-0367.2011v32n1p15
- De Waal, Y. C. M., van Winkelhoff, A. J., Meijer, H. J. a, Raghoobar, G. M., & Winkel, E. G. (2013). Differences in peri-implant conditions between fully and partially edentulous subjects: a systematic review. *Journal of Clinical Periodontology*, 40(3), 266–86. doi:10.1111/jcpe.12013
- Do Nascimento, C., Pita, M. S., Pedrazzi, V., de Albuquerque Junior, R. F., & Ribeiro, R. F. (2013). In vivo evaluation of *Candida* spp. adhesion on titanium or zirconia abutment surfaces. *Archives of Oral Biology*, 58(7), 853–61. doi:10.1016/j.archoralbio.2013.01.014
- Emami, E., de Grandmont, P., Rompre, P. H., Barbeau, J., Pan, S., & Feine, J. S. (2008). Favoring Trauma as an Etiological Factor in Denture Stomatitis. *Journal of Dental Research*, 87(5), 440–444. doi:10.1177/154405910808700505



- Felton, D., Cooper, L., Duqum, I., Minsley, G., Guckes, A., Haug, S., ... Chandler, N. D. (2014). Updated information and services including high-resolution figures, can be found in the online version of this article at: *JADA*, 142(2), 1S–20S.
- Di Fiore, S. R., Di Fiore, M. A., & Di Fiore, A. P. (2010). *Atlas de prótese parcial removível: Principios Biomênicos, Biotipos e de Oclusão* (pp. 80–94). São Paulo, Brasil: Santos editora.
- Fueki, K., Ohkubo, C., Yatabe, M., Arakawa, I., Arita, M., Ino, S., ... Yatani, H. (2014). Clinical application of removable partial dentures using thermoplastic resin-part I: definition and indication of non-metal clasp dentures. *Journal of Prosthodontic Research*, 58(1), 3–10. doi:10.1016/j.jpor.2013.12.002
- Gasparoto, T. H., Vieira, N. A., Porto, V. C., Campanelli, A. P., & Lara, V. S. (2009). Ageing exacerbates damage of systemic and salivary neutrophils from patients presenting *Candida*-related denture stomatitis. *Immunity & Ageing: I & A*, 6, 3. doi:10.1186/1742-4933-6-3
- Gaviria, L., Salcido, J. P., Guda, T., & Ong, J. L. (2014). Current trends in dental implants. *Jornal of Korean Association of Oral and Maxilofacial Surgery*, 40, 50–60.
- Ghannoum, M. a, Jurevic, R. J., Mukherjee, P. K., Cui, F., Sikaroodi, M., Naqvi, A., & Gillevet, P. M. (2010). Characterization of the oral fungal microbiome (mycobiome) in healthy individuals. *PLoS Pathogens*, 6(1), e1000713. doi:10.1371/journal.ppat.1000713
- Goiato, M. C., dos Santos, D. M., Santiago, J. F., Moreno, a, & Pellizzer, E. P. (2014). Longevity of dental implants in type IV bone: a systematic review. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 43(9), 1108–16. doi:10.1016/j.ijom.2014.02.016
- Gracis, S., Michalakis, K., Vigolo, P., Vult von Steyern, P., Zwahlen, M., & Sailer, I. (2012). Internal vs. external connections for abutments/reconstructions: a systematic review. *Clinical Oral Implants Research*, 23 Suppl 6, 202–16. doi:10.1111/j.1600-0501.2012.02556.x
- Heydecke, G., Zwahlen, M., Nicol, A., Nisand, D., Payer, M., Renouard, F., ... Joda, T. (2012). What is the optimal number of implants for fixed reconstructions: a systematic review. *Clinical Oral Implants Research*, 23 Suppl 6, 217–28. doi:10.1111/j.1600-0501.2012.02548.x
- Ho, C. C. K., Dip, G., Dent, C., Dent, M. C., & Sascha, A. (2014). The Concept for Rehabilitation of an Edentulous Jaw Implant. *Compendium of Continuing Education in Dentistry*, 8–15.
- Hyland, R., Ellis, J., Thomason, M., El-Feky, A., & Moynihan, P. (2009). A qualitative study on patient perspectives of how conventional and implant-supported dentures affect eating. *Journal of Dentistry*, 37(9), 718–723. doi:10.1016/j.jdent.2009.05.028

- Jahn, C. A. (2010). the Literature. *The Journal of Dental Hygiene*, 84(3).
- Jensen, O. T. (2014). Complete arch site classification for all-on-4 immediate function. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 112(4), 741–751.e2. doi:10.1016/j.prosdent.2013.12.023
- Koyanagi, T., Sakamoto, M., Takeuchi, Y., Ohkuma, M., & Izumi, Y. (2010). Analysis of microbiota associated with peri-implantitis using 16S rRNA gene clone library. *Journal of Oral Microbiology*, 2(14), 1–7. doi:10.3402/jom.v2i0.5104
- Krom, B. P., Kidwai, S., & Ten Cate, J. M. (2014). *Candida* and other fungal species: forgotten players of healthy oral microbiota. *Journal of Dental Research*, 93(5), 445–51. doi:10.1177/0022034514521814
- Kwon, T., Bain, P. a, & Levin, L. (2014). Systematic review of short- (5-10 years) and long-term (10 years or more) survival and success of full-arch fixed dental hybrid prostheses and supporting implants. *Journal of Dentistry*. doi:10.1016/j.jdent.2014.05.016
- Laurito, D., Lamazza, L., Spink, M. J., & Biase, A. De. (2012). Tissue-supported dental implant prosthesis ( overdenture ): the search for the ideal protocol . A literature review, *Annali di Stomatologia*, (1), 2–10.
- Lee, C.-J., Bok, S.-B., Bae, J.-Y., & Lee, H.-H. (2010). Comparative adaptation accuracy of acrylic denture bases evaluated by two different methods. *Dental Materials Journal*, 29(4), 411–417. doi:10.4012/dmj.2009-105
- Leonhardt, A., Adolfsson, B., Lekholm, U., Wikström, M., & Dahlén, G. (1993). A longitudinal microbiological study on osseointegrated titanium implants in partially edentulous patients. *Clinical Oral Implants Research*, 4(3), 113–20.
- Leonhardt, A., Bergström, C., & Lekholm, U. (2003). Microbiologic diagnostics at titanium implants. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*, 5(4), 226–32. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15127993>
- Leonhardt, A., Renvert, S., & Dahlén, G. (1999). Microbial findings at failing implants. *Clinical Oral Implants Research*, 10(5), 339–45.
- Li, J., Hirota, K., Goto, T., Yumoto, H., Miyake, Y., & Ichikawa, T. (2012). Biofilm formation of *Candida albicans* on implant overdenture materials and its removal. *Journal of Dentistry*, 40(8), 686–92. doi:10.1016/j.jdent.2012.04.026
- Lindhe, J., Lang, N. P., & Karring, T. (2008). *Clinical Periodontology and Implant Dentistry* (pp. 183–342). Oxford, UK: Blackwell Munksgaard.
- Louropoulou, A., Slot, D. E., & Van der Weijden, F. (2014). Mechanical self-performed oral hygiene of implant supported restorations: a systematic review. *The Journal of Evidence-Based Dental Practice*, 14 Suppl, 60–9.e1. doi:10.1016/j.jebdp.2014.03.008

- Lyon, J. P., Carvalho, S., Maria, V., Totti, G., Forestti, M., Munhoz, V., & Resende, M. A. De. (2006). Predisposing conditions for *Candida* spp . carriage in the oral cavity of denture wearers and individuals with natural teeth. *Canadian Journal of Microbiology*, 467, 462–467. doi:10.1139/W05-148
- Majewski, S., Loster, B. W., Macura, A. B., Wisniewska, G., Sliwowski, Z., & Konturek, S. J. (2008). Application of a diagnostic-therapeutic procedure using implant-supported dental prosthesis as a preventive therapy for. *Journal of Physiology and Pharmacology*, (1), 39–46.
- Malo, P., Nobre, M. D. A., Moss, S. M., Molina, G. J., & Lopes, A. (2011). Updated information and services including high-resolution figures, can be found in the online version of this article at: *JADA*, 142, 310–320.
- Manfredi, M., Polonelli, L., Aguirre-Urizar, J. M., Carrozzo, M., & McCullough, M. J. (2013). Urban legends series: oral candidosis. *Oral Diseases*, 19(3), 245–61. doi:10.1111/odi.12013
- MARSH, P. D., MOTER, A., & DEVINE, D. A. (2011). Dental plaque biofilms : communities , conflict and control. *Periodontology 2000*, 55(90), 16–35.
- Martori, E., Ayuso-Montero, R., Martinez-Gomis, J., Viñas, M., & Peraire, M. (2013). Risk factors for denture-related oral mucosal lesions in a geriatric population. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 111(4), 273–279. doi:10.1016/j.prosdent.2013.07.015
- Matsuda, K., Kurushima, Y., Enoki, K., Ikebe, K., & Maeda, Y. (2014). Replacement of a mandibular implant-fixed prosthesis with an implant-supported overdenture to improve maintenance and care. *Journal of Prosthodontic Research*, 58(2), 132–6. doi:10.1016/j.jpor.2013.12.004
- McManus, B. a, & Coleman, D. C. (2014). Molecular epidemiology, phylogeny and evolution of *Candida albicans*. *Infection, Genetics and Evolution : Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases*, 21, 166–78. doi:10.1016/j.meegid.2013.11.008
- Misch, C. E. (2007). *Prótese sobre Implantantes* (pp. 32–42; 252–264). São Paulo, Brasil: Editora Santos.
- Mishler, O. P., & Shiau, H. J. (2014). Management of peri-implant disease: a current appraisal. *The Journal of Evidence-Based Dental Practice*, 14 Suppl, 53–9. doi:10.1016/j.jebdp.2014.04.010
- Mombelli, A. (1993). Advances in Dental Research. *Sagepublications*, 2, 202–2006. doi:10.1177/08959374930070021201
- Mombelli, A., & Décaillet, F. (2011). The characteristics of biofilms in peri-implant disease. *Journal of Clinical Periodontology*, 38 Suppl 1, 203–13. doi:10.1111/j.1600-051X.2010.01666.x

- Murgueitio, R., Dussan, J., Rios, H., & Avila-Ortiz, G. (2014). Visual labels to facilitate hygiene around implant-supported complete fixed dental prostheses. *The Journal of Prosthetic Dentistry*. doi:10.1016/j.prosdent.2014.05.026
- Neppelenbroek, K. H., Seó, R. S., Urban, V. M., Silva, S., Dovigo, L. N., Jorge, J. H., & Campanha, N. H. (2014). Identification of *Candida* species in the clinical laboratory: a review of conventional, commercial, and molecular techniques. *Oral Diseases*, 20(4), 329–44. doi:10.1111/odi.12123
- Pachava, K. R., K, K. S., Nadendla, L. K., & Reddy, M. R. (2013). Denture Stomatitis - A Review ABSTRACT : *Indian Journal of Dental Advancements*, 5(1), 1107–1112. doi:10.5866/2013.511107
- Papaspyridakos, P., Mokti, M., Chen, C.-J., Benic, G. I., Gallucci, G. O., & Chronopoulos, V. (2013). Implant and Prosthodontic Survival Rates with Implant Fixed Complete Dental Prostheses in the Edentulous Mandible after at Least 5 Years: A Systematic Review. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*, 1–13. doi:10.1111/cid.12036
- Parithimarkalaignan, S., & Padmanabhan, T. V. (2013). Osseointegration: an update. *Journal of Indian Prosthodontic Society*, 13(1), 2–6. doi:10.1007/s13191-013-0252-z
- Park, S. J., Han, K., Park, J. Y., Choi, S. J., & Lee, K. (2014). Influence of Bacterial Presence on Biofilm Formation of *Candida albicans*. *Yonsei Med Journal*, 55(2), 449–458.
- Penarrocha-Oltra, D., Covani, U., & Penarrocha-Diago, M. (2014). Immediate loading with fixed full-arch prostheses in the maxilla: Review of the literature. *Medicina Oral Patología Oral Y Cirugía Bucal*, e512–e517. doi:10.4317/medoral.19664
- Pereira-Cenci, T., Deng, D. M., Kraneveld, E. A., Manders, E. M. M., Del Bel Cury, A. A., Ten Cate, J. M., & Crielaard, W. (2008). The effect of *Streptococcus mutans* and *Candida glabrata* on *Candida albicans* biofilms formed on different surfaces. *Archives of Oral Biology*, 53(8), 755–64. doi:10.1016/j.archoralbio.2008.02.015
- Preciado, A., Del Río, J., Lynch, C. D., & Castillo-Oyagüe, R. (2013). A new, short, specific questionnaire (QoLIP-10) for evaluating the oral health-related quality of life of implant-retained overdenture and hybrid prosthesis wearers. *Journal of Dentistry*, 41(9), 753–63. doi:10.1016/j.jdent.2013.06.014
- Radford, D. R., Challacombe, S. J., & Walter, J. D. (1999). Denture plaque and adherence of *Candida albicans* to denture-base materials in vivo and in vitro. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine : An Official Publication of the American Association of Oral Biologists*, 10(1), 99–116
- Ramage, G., Robertson, S. N., & Williams, C. (2014). Strength in numbers: antifungal strategies against fungal biofilms. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 43(2), 114–20. doi:10.1016/j.ijantimicag.2013.10.023

- Real-Osuna, J., Almendros-Marques, N., & Gay-Escoda, C. (2012). Prevalence of complications after the oral rehabilitation with implant-supported hybrid prostheses. *Medicina Oral Patología Oral Y Cirugia Bucal*, 17(1), e116–e121. doi:10.4317/medoral.17099
- Reis, J. M. dos S. N., Pinelli, L. A. P., Neto, N. C., Monnazzi, M. S., & Segalla, J. C. M. (2008). An Overview Regarding Contemporary Biomechanical Aspects on Immediate Loading Dental Implants. *Implant Dentistry-A Rapidly Evolving Practice*, 129–162.
- De Souza, R., de Freitas, O. P. H., Lovato da Silva, C., Abu-Naba'a, L., Fedorowicz, Z., & Gurgan, C. (2009). Interventions for cleaning dentures in adults ( Review ). *The Cochrane Collaboration*, (4).
- Rosenberg, E. S., Torosian, J. P., & Slots, J. (1991). Microbial differences in 2 clinically distinct types of failures of osseointegrated implants. *Clinical Oral Implants Research*, 2(3), 135–44.
- Salerno, C., Pascale, M., Contaldo, M., Esposito, V., Busciolano, M., Milillo, L., ... Serpico, R. (2011a). *Candida*-associated denture stomatitis. *Medicina Oral Patología Oral Y Cirugia Bucal*, 16(2), e139–e143. doi:10.4317/medoral.16.e139
- Salerno, C., Pascale, M., Contaldo, M., Esposito, V., Busciolano, M., Milillo, L., ... Serpico, R. (2011b). *Candida*-associated denture stomatitis. *Medicina Oral Patología Oral Y Cirugia Bucal*, 16(2), e139–e143. doi:10.4317/medoral.16.e139
- Sampaio-maia, B., & Monteiro-silva, F. (2014). Acquisition and maturation of oral microbiome throughout childhood : An update. *Dentistry Reserch Jornal*, 11(3), 291–301.
- Sardi, J., Almeida, A., & Giannini, M. (2011). New antimicrobial therapies used against fungi present in subgingival sites--a brief review. *Archives of Oral Biology*, 56(10), 951–9. doi:10.1016/j.archoralbio.2011.03.007
- Satpathy, A., M R, D., & Gujjari, A. K. (2013). An Evaluation of the Adherence of *Candida albicans* on the Surface of Heat Cure Denture Base Material Subjected to Different Stages of Polishing. *Journal of Clinical and Diagnostic Research : JCDR*, 7(10), 2360–3. doi:10.7860/JCDR/2013/6082.3524
- Shibli, J. A., Melo, L., Ferrari, D. S., Figueiredo, L. C., Faveri, M., & Feres, M. (2008). Composition of supra- and subgingival biofilm of subjects with healthy and diseased implants. *Clinical Oral Implants Research*, 19(10), 975–82. doi:10.1111/j.1600-0501.2008.01566.x
- Silva, S., Henriques, M., Hayes, A., Oliveira, R., Azeredo, J., & Williams, D. W. (2011). *Candida glabrata* and *Candida albicans* co-infection of an in vitro oral epithelium. *Journal of Oral Pathology & Medicine : Official Publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology*, 40(5), 421–7. doi:10.1111/j.1600-0714.2010.00981.x

- Soares, C. F. G. (2009) Estudo da alteração da microflora perimplantar decorrente da modificação dos hábitos de higiene oral, (Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Dentária), Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, Monte da Caparica, Portugal
- Ten Oever, J., & Netea, M. G. (2014). The bacteriome-mycobiome interaction and antifungal host defense. *European Journal of Immunology*. doi:10.1002/eji.201344405
- Todescan, S., Lavigne, S., & Kelekis-cholakis, A. (2012). Guidance for the Maintenance Care of Dental Implants: Clinical Review. *J Can Dent Assoc*, 78.
- Turano, L. M., Turano, J.C. (2007). *Fundamentos de Prótese Total*, Editora Santos. Wanda, F., Ferreira, J. C. F. d. S., Lima, N. Microbiologia, LIDEL;
- Turker, S. B., Sener, I. D., Koçak, A., Yilmaz, S., & OZkan, Y. K. (2010). Factors triggering the oral mucosal lesions by complete dentures. *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 51(1), 100–104. doi:10.1016/j.archger.2009.09.001
- Tyc, K. M., Kühn, C., Wilson, D., & Klipp, E. (2014). Assessing the advantage of morphological changes in *Candida albicans*: a game theoretical study. *Frontiers in Microbiology*, 5(February), 41. doi:10.3389/fmicb.2014.00041
- Viegas, C. A. F. (2013) Estudo da flora fúngica oral em indivíduos diabéticos portadores de prótese, (Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Dentária), Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, Monte da Caparica, Portugal
- Volpato, C., Garbelotto, L., Zani, I., & Vasconcellos, D. (2012). *Próteses Odontológicas - Uma visão Contemporânea* (pp. 261–341; 393–475). São Paulo, Brasil: Editora Santos.
- Wieckiewicz, M., Opitz, V., Richter, G., & Boening, K. W. (2014). Physical Properties of Polyamide-12 versus PMMA Denture Base Material. *BioMed Research International*, 2014, 8.
- Williams, D., & Lewis, M. (2011). Pathogenesis and treatment of oral candidosis. *Journal of Oral Microbiology*, 3(30), 1–11. doi:10.3402/jom.v3i0.5771
- Zembic, A., Kim, S., Zwahlen, M., & Kelly, J. R. (2014). Systematic Review of the Survival Rate and Incidence of Biologic, Technical, and Esthetic Complications of Single Implant Abutments Supporting Fixed Prostheses. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 99–116. doi:10.11607/jomi.2014suppl.g2

## VII - ANEXOS

### (Anexo 1)



22

Ex.mo Senhor  
**Bruno Filipe Antunes Neto**

Monte de Caparica, 24 de março de 2014

Ex.mo Senhor,

Venho comunicar-lhe que o Pedido de Parecer que submeteu à apreciação da Comissão de Ética da Egas Moniz, com o tema denominado "*Estudo comparativo da microflora fúngica de doentes portadores de próteses totais acrílicas mucosuportadas e implantosuportadas*", foi aprovado por unanimidade.

Queira aceitar os melhores cumprimentos,

A Presidente da Comissão de Ética da Egas Moniz

Profª. Doutora Maria Fernanda de Mesquita

c.c. - Prof. Doutor Sérgio Félix

---

EGAS MONIZ – COOPERATIVA DE ENSINO SUPERIOR, CRL  
Campus Universitário – Quinta da Granja – Monte de Caparica  
2829-511 Caparica

(Anexo 2)



## ***Clinica Universitária***

### **Declaração da Direção Clínica**

#### **Autorização para realização trabalho de projeto final do MIMD na Clínica Dentária Universitária Egas Moniz**

Excelentíssima Professora Doutora Fernanda de Mesquita

O aluno **Bruno Filipe Antunes Neto**, pode utilizar a Clínica Dentária Universitária Egas Moniz (CDUEM), para realização da investigação "ESTUDO COMPARATIVO DA MICROFLORA FÚNGICA DE DOENTES PORTADORES DE PRÓTESE TOTAIS ACRÍLICAS MUCOSUPORTADAS E IMPLANTOSUPORTADAS".

Aguardo a aprovação da Comissão Científica e da Comissão de Ética, para cedência das instalações e dos doentes da clínica de acordo com o normal funcionamento da Clínica.

A consulta dos processos clínicos somente poderá ser efetuada na CDUEM, dentro de horário a estipular para cada projecto.

Atenciosamente, com os melhores cumprimentos

Monte da Caparica, 21 de Janeiro de 2014

**Direção Clínica**

A handwritten signature in dark ink, likely belonging to the Clinical Director, is written over the printed name 'Direção Clínica'. The signature is stylized and appears to be a combination of initials and a surname.



**(Anexo 3)**



Exmo.(os). Srs.

Venho por este meio informar que autorizo que o aluno Bruno Filipe Antunes Neto, realize no meu consultório e nos meus doentes a recolha de amostras para a realização de um trabalho subordinado ao tema “ESTUDO COMPARATIVO DA MICROFLORA FÚNGICA DE DOENTES PORTADORES DE PRÓTESES TOTAIS ACRÍLICAS MUCOSUPORTADAS E IMPLANTOSUPORTADAS”

Sei que este trabalho será supervisionado pelo Professor Doutor Sérgio Félix, pela Professora Doutora Madalena Oom.

Monte de Caparica, 30 de Janeiro de 2014

Atentamente,

(Anexo 4)



## DECLARAÇÃO

Vimos por este meio declarar que autorizamos o aluno Bruno Neto, orientada pelo Prof. Dr. Paulo Maurício, à recolha de dados nas nossas instalações.

Clínica de Reabilitação Oral Avançada de Paulo Maurício

Director Clínico



## (Anexo 5)



### Consentimento Informado

Código | IMP:EM.PE.17\_02

Monte de Caparica, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de ano 201\_\_

Exmo.(a) Sr.(a),

No âmbito do Mestrado Integrado em Medicina Dentária na Unidade Curricular de Clínica de Reabilitação Oral III do(a) Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, sob a orientação do(a) Professor(a) Doutor(a) Sérgio Antunes Félix e Maria Madalena Seabra de Oliveira Salema Cordeiro Oom, solicita-se autorização para a participação no **“ESTUDO COMPARATIVO DA MICROFLORA FÚNGICA DE DOENTES PORTADORES DE PRÓTESES TOTAIS ACRÍLICAS MUCOSUPORTADAS E IMPLANTOSUPORTADAS”**, com o objetivo de comparar a microflora oral de indivíduos portadores de próteses totais acrílicas mucosuportadas com portadores de prótese totais acrílicas implantossuportadas.”

A participação neste estudo é voluntária. A não participação não lhe trará qualquer risco ou efeito indesejável, uma vez que a sua participação limita-se a permitir a colheita de uma ou mais zaragatoas orais, bem como fornecer um certo número de dados pessoais e clínicos presentes num formulário preparado para esse fim.

Este estudo pode contribuir para o esclarecimento caracterização do problema em estudo, e consequentemente para o desenvolvimento de estratégias que levem à diminuição do aparecimento de leveduras e aumento de qualidade de vida dos portadores de vida.

A informação recolhida destina-se unicamente a investigação médica, clínica ou fundamental e serão tratados e apresentados de forma anónima.

*(Riscar o que não interessa)*

**ACEITO/NÃO ACEITO** participar neste estudo, confirmando que fui esclarecido sobre as condições do mesmo e que não tenho dúvidas.

---

*(Assinatura do participante ou, no caso de menores, do pai/mãe ou tutor legal)*

## Texto Informativo para o Doente

---



Exmo.(a) Sr.(a),

No âmbito do Mestrado Integrado em Medicina Dentária, pretendo desenvolver um **“ESTUDO COMPARATIVO DA MICROFLORA FÚNGICA DE DOENTES PORTADORES DE PRÓTESES TOTAIS ACRÍLICAS MUCOSUPORTADAS E IMPLANTOSUPORTADAS”**.

Este estudo tem como objetivo “comparar a microflora fúngica de doentes com próteses totais acrílicas suportadas pela mucosa com a microflora de doentes portadores de prótese totais acrílicas suportadas por implantes.” Este estudo é realizado por mim Bruno Filipe Antunes Neto e supervisionado directamente pelo Doutor Sérgio Félix.

Assim sendo, propomo-nos a estudar a flora microbiana encontrada nas mucosas sob este tipo de próteses, de modo a adequar os tratamentos às necessidades do doente. Para tal, será realizada uma avaliação clínica da cavidade oral do doente participante, e uma recolha através de uma passagem de um algodão nas mucosas e ou a colocação de uns cones de papel na gengiva ao redor dos implantes e respectiva introdução dos dados num documento. Estes são trabalhados de uma forma que nunca está identificado a pessoa a quem foram recolhidos.

Todas as amostras recolhidas são devidamente catalogadas e enviadas para laboratório para posterior análise. Os dados obtidos são então confidenciais e acessíveis unicamente aos investigadores do projeto.

A sua participação é voluntária e anónima. Todas as informações recolhidas serão absolutamente confidenciais e estarão abrangidas pelo segredo profissional. Os procedimentos utilizados seguem as normas éticas, não oferecendo riscos de qualquer natureza.

Se o doente recusar participar, isso não afetará de forma alguma a sua relação com os técnicos de saúde ou o seu tratamento.

**Muito obrigada pela colaboração!**

(Anexo 7)



MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA  
Campus Universitário  
Quinta da Granja - Monte de Caparica, 2829-511  
Caparica  
Telefone: +351 21 2946725

COLHEITA N.º: \_\_\_\_\_

DATA RECOLHA: \_\_/\_\_/\_\_\_\_

LOCAL: \_\_\_\_\_

**“Estudo comparativo da microflora fúngica de doentes portadores de prótese totais acrílicas mucosuportadas e implantosuportadas”**

IDADE: \_\_\_\_\_ SEXO: MASCULINO: ☐ FEMININO: ☐

DATA COLOCAÇÃO: \_\_\_\_\_

PROTESE: SUPERIOR ☐ INFERIOR ☐

ADAPTAÇÃO DA PRÓTESE (RX): SIM: ☐ NÃO: ☐

Nº DE IMPLANTES: \_\_\_\_\_

SINAIS CLÍNICOS DE INFECÇÃO: SUPURAÇÃO: ☐ SANGRAMENTO: ☐ DOR: ☐

BOLSA AUMENTADA: ☐ MOBILIDADE: ☐ RADIOTRANSAPARENCIA RX: ☐

**PATOLOGIAS ASSOCIADAS**

DIABETES: ☐ TIPO: \_\_\_\_\_ XEROSTOMIA: ☐ DOENÇA AUTO IMUNE: ☐ HEPATITE: ☐ \_\_\_\_\_

QUELITE: ☐ HIV: ☐ MUCOSITE: ☐ GRAU: \_\_\_\_\_ TABACO: ☐ N.º \_\_\_\_\_ ALCOOL: ☐

ESTUPEFACIENTES: ☐

TERAPÊUTICA (CORTICO/ANTICOLINÉ/ANTIDEPRE/ANTIBIO/ANTIFUN): \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_ FINAL: \_\_\_\_\_

**HIGIENE**

ESCOVAGEM Nº VEZES DIA : \_\_\_\_ ELIXIR: ☐ OUTROS MEIOS: ☐ \_\_\_\_\_

REFERE SANGRAMENTO: ☐

RUBRICA DO CLÍNICO: \_\_\_\_\_